

MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA DO AMBIENTE 2013/2014

Avaliação da contaminação dos solos por micropoluentes

Raquel Nevado Mendes de Sá

Dissertação submetida para obtenção do grau de

MESTRE EM ENGENHARIA DO AMBIENTE

Presidente do Júri: Manuel Fernando Ribeiro Pereira

(Professor Associado do Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da
Universidade do Porto)

Orientador académico: Lúcia Maria da Silveira Santos

(Professor Auxiliar do Departamento de Engenharia Química da Faculdade de Engenharia da
Universidade do Porto)

Coorientador académico: Nuno Miguel Ratola Neto

(Investigador do Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia)

Julho de 2014

Agradecimentos

No final de um ciclo que se encerra não poderia deixar de fazer alguns agradecimentos a todos aqueles que fizeram desta tese uma realidade.

Ao LEPABE (Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia), do Departamento de Engenharia Química, por fornecer todo o equipamento, reagentes e instalações necessárias.

Este trabalho foi financiado por Fundos FEDER através do Programa Operacional Fatores de Competitividade - COMPETE, através do Programa Operacional do Norte (ON2) e por Fundos Nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia no âmbito dos projetos PEst-C/EQB/UI0511 e NORTE-07-0124-FEDER-000025 - RL2_ Environment&Health.

À minha orientadora Professora Lúcia Santos e coorientador Doutor Nuno Ratola, pela compreensão, experiência e sabedoria transmitidos no decorrer da presente tese.

Um agradecimento especial à Doutora Vera Homem, ao Eng.º José Avelino e à Eng.ª Sara Ramos, por todo o apoio e conhecimentos prestados, pela paciência e preocupação.

A toda os colegas do laboratório MIA 201, pelos momentos de diversão e descontração proporcionados, mas também pelos momentos de entreaajuda.

À minha família do coração: os meus amigos. Obrigada por estarem sempre do meu lado, pelas palavras de apoio, força e coragem. À João e à Margarida Vinhas, grata por fazerem parte da minha vida, pelos momentos de cumplicidade e pela amizade que nos une.

Uma enorme gratidão à minha família: aos meus pais, à minha irmã Mariana e à minha prima Liliana. Vocês são o meu pilar, nos maus e nos bons momentos. À minha avó Olinda, o ser mais corajoso e forte que algum dia conhecerei, sem ti esta etapa da minha vida não teria sido concluída. Por tudo e por nada, por estares sempre do meu lado e por seres a minha luz: OBRIGADA!

Resumo

De acordo com trabalhos anteriores, com este estudo pretendeu-se adaptar um método analítico de extração de PAHs e *musks* por ultrassons em solos. Devido à restrição de tempo apenas foi possível adaptar a metodologia para a classe *musks* (*cashmeran*, *celestolide*, *galaxolide*, *phantolide*, *tonalide*, *traseolide* e *musks ambrette*, *ketone*, *moskene*, *tibetene* e *xylene*).

Musks são compostos orgânicos usados como aditivos de fragrâncias e compostos fixadores numa diversidade de produtos de higiene pessoal. Apesar da sua ampla utilização, muitos poucos estudos foram realizados na análise destes compostos em solos. Apenas recentemente, os *musks* começaram a gerar alguma preocupação na comunidade científica, devido ao seu elevado consumo e consequente libertação no meio ambiente, daí a escassa literatura acerca desta problemática e a importância do estudo apresentado.

As condições da metodologia proposta foram as seguintes: 5 g de solo em cartuchos de papel de filtro + 100 mL hexano/diclorometano (1:1) (30 min ultrassons). Após extração, o extrato foi passado por uma coluna de sulfato de sódio (≈ 2 g) e levou-se o extrato à secura numa corrente de azoto. Por fim reconstituiu-se a amostra com 100 μ L de solvente de reconstituição. A análise foi realizada por GC-MS, numa coluna BRUKER BR-5ms (30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 μ m espessura de filme).

O método analítico foi validado e revelou-se preciso (desvio padrão relativo <15%) e exato (recuperação média de 99%), permitindo a deteção de *musks* em concentrações mínimas entre 0,002 ng.g⁻¹ (*phantolide*) e 0,05 ng.g⁻¹ (*musk moskene*).

O método descrito foi aplicado para a análise de três amostras (solo urbano, industrial e rural) que apenas revelaram concentrações dos *musks cashmeran*, *celestolide* e *galaxolide*, numa concentração entre 0,0367 ng.g⁻¹ e 68,6 ng.g⁻¹ (base seca).

Palavras-chave:

GC-MS, *Musks*, PAHs, Solo, Ultrassons.

Abstract

According to previous studies, this study intended to adapt an analytical method for the extraction of PAHs and musks in soils by sonication. Due to time constraints it was only possible to adapt the methodology to musks (cashmeran, celestolide, galaxolide, phantolide, tonalide, traseolide and musks ambrette, ketone, moskene, tibetene and xylene).

Musks are organic compounds used as additives of fragrance and fasteners compounds in a variety of personal care products. Despite its widespread use, very few studies have been conducted on the analysis of these compounds in soils. Only recently, musks have started generating some concern in the scientific community due to its high consumption and consequent release into the environment, therefore the limited literature on this matter and the importance of the present study.

The conditions of the proposed methodology were the followings: 5 g of soil in a cartridge (paper filter) + 100 mL hexane/dichloromethane (1:1) (30 min sonication). After extraction, the extract passed through a column of sodium sulfate (≈ 2 g) and taken up extract to dryness in a stream of nitrogen. Finally the sample was reconstituted with 100 μ L of solvent for reconstitution. The analysis was performed by GC-MS on a BRUKER BR-5ms column (30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m thickness film).

The analytical method was validated and proved to be precise (relative standard deviation <15%) and accurate (average recovery of 99%), and allowing the detection of musks at minimal concentrations between 0.002 ng.g⁻¹ (phantolide) and 0.05 ng.g⁻¹ (musk moskene).

The described method was applied to the analysis of three samples (urban, industrial and rural) that only showed concentrations of cashmeran, celestolide and galaxolide at a concentration between 0.0367 ng.g⁻¹ and 68.6 ng.g⁻¹ (dry weight).

Keywords:

GC-MS, Musks, PAHs, Soil, Sonication.

Índice

Índice	i
Índice de Figuras.....	iii
Índice de Tabelas	iv
Lista de Abreviaturas	v
1 Introdução.....	1
1.1 Enquadramento e apresentação do projeto	1
1.2 Micropoluentes no solo	2
1.2.1 Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos.....	4
1.2.2 <i>Musks</i>	8
1.2.2.1 <i>Musks</i> policíclicos.....	9
1.2.2.2 Nitromusks.....	11
1.2.2.3 <i>Musks</i> macrocíclicos	11
1.2.2.4 <i>Musks</i> alicíclicos	11
1.3 Metodologia analítica para a determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e <i>musks</i> em solos.....	12
1.3.1 Técnicas de extração.....	13
1.3.1.1 Extração por Soxhlet.....	13
1.3.1.2 Extração por ultrassons	15
1.3.2 <i>Clean-up</i>	15
1.3.3 Análise por cromatografia gasosa com deteção por espetrometria de massa.....	16
2 Estado da Arte	19
2.1 Determinação de PAHs em solos	19
2.2 Determinação de <i>musks</i> em solos.....	34
3 Descrição Técnica.....	37
3.1 Reagentes	37
3.2 Preparação de padrões	37
3.2.1 Padrão para ensaios de validação.....	38

3.2.2	Padrão interno.....	38
3.3	Equipamento.....	38
3.4	Amostras.....	39
3.5	Método de extração	40
3.5.1	Ensaio de validação.....	40
3.5.2	Branco.....	41
3.5.3	Determinação do teor de humidade	41
3.6	Instrumentação.....	42
3.7	Controlo de qualidade	43
3.8	Acondicionamento, destino e tratamento de resíduos	44
4	Discussão dos Resultados	45
4.1	Adaptação da metodologia de extração	45
4.1.1	Metodologia original com solo em cartucho e solo solto.....	45
4.1.2	Ensaio teste para a fase de <i>clean-up</i>	47
4.1.2.1	Alteração do solvente de eluição no SPE.....	48
4.1.3	Ensaio teste para extração sem <i>clean-up</i>	49
4.1.3.1	Verificação da <i>performance</i> do GPC	51
4.2	Validação da metodologia analítica para <i>musks</i>	52
4.3	Determinação de <i>musks</i> em solos naturalmente contaminados.....	55
5	Conclusões	59
6	Limitações e Trabalho Futuro	61
	Referências	63
	Anexo I - Curvas de Calibração.....	69
	Anexo II - <i>Poster</i>	73

Índice de Figuras

<i>Figura 1 - Extração por Soxhlet. Adaptado de ChemWiki (2014).</i>	14
<i>Figura 2 - Esquema representativo de GC-MS. Adaptado de Connell (2005b).</i>	17
<i>Figura 3 - Solo para análise: A - urbano, B - industrial, C - rural.</i>	39
<i>Figura 4 - Diagrama da metodologia utilizada.</i>	41
<i>Figura 5 - Cromatograma de uma amostra de solo com adição de padrão (750 µg.L⁻¹).</i>	54
<i>Figura 6 - Cromatograma de uma amostra de solo urbano.</i>	54
<i>Figura A 1 - Curva de calibração para o cashmeran.</i>	69
<i>Figura A 2 - Curva de calibração para o celestolide.</i>	69
<i>Figura A 3 - Curva de calibração para o galaxolide.</i>	70
<i>Figura A 4 - Curva de calibração para o phantolide.</i>	70
<i>Figura A 5 - Curva de calibração para o tonalide.</i>	70
<i>Figura A 6 - Curva de calibração para o traseolide.</i>	71
<i>Figura A 7 - Curva de calibração para o musk ambrette.</i>	71
<i>Figura A 8 - Curva de calibração para o musk ketone.</i>	71
<i>Figura A 9 - - Curva de calibração para o musk moskene.</i>	72
<i>Figura A 10 - Curva de calibração para o musk tibetene.</i>	72
<i>Figura A 11 - Curva de calibração para o musk xylene</i>	72

Índice de Tabelas

<i>Tabela 1 - Propriedades dos PAHs (EPI Suite™ v4.11).</i>	<i>6</i>
<i>Tabela 2 - Propriedades dos musks policíclicos (EPI Suite™ v4.11).</i>	<i>10</i>
<i>Tabela 3 - Propriedades dos nitromusks (EPI Suite™ v4.11).</i>	<i>12</i>
<i>Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos.</i>	<i>25</i>
<i>Tabela 5 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de musks em solos.</i>	<i>36</i>
<i>Tabela 6 - Tempos de retenção, iões de identificação e quantificação dos PAHs e musks.</i>	<i>43</i>
<i>Tabela 7 - Recuperações e respetivos desvios padrões relativos (RSD) para PAHs e musks (solo em cartucho e solo solto).</i>	<i>46</i>
<i>Tabela 8 - Recuperações e respetivos desvios padrões (RSD) para PAHs e musks após SPE e SPE+GPC.</i>	<i>48</i>
<i>Tabela 9 - Recuperações para PAHs e musks com DCM.</i>	<i>49</i>
<i>Tabela 10 - Recuperações para PAHs e musks (adição de padrão pré e pós extração).</i>	<i>50</i>
<i>Tabela 11 - Recuperações para PAHs e musks (para colunas GPC).</i>	<i>51</i>
<i>Tabela 12 - Parâmetros de validação para a metodologia.</i>	<i>53</i>
<i>Tabela 13 - Níveis de concentração (ng.g⁻¹), em base seca, detetados em cada tipo de solo analisado.</i>	<i>55</i>

Lista de Abreviaturas

Ac	Acetona
Al ₂ O ₃	Alumina
ASE	Extração com solvente acelerada (<i>accelerated solvent extraction</i>)
C	Concentração
CAS	<i>Chemical Abstracts Service</i>
CF ₃ COOH	Ácido trifluoroacético
DCM	Diclorometano
EcoFEUP	Sistema de gestão ambiental da FEUP
EI	Impacto de eletrões (<i>electron impact</i>)
EPI	<i>Estimation Programs Interface</i>
ETARs	Estações de tratamento de águas residuais
EtOAc	Acetato de etilo
EUA	Estados Unidos da América
FD	Deteção por fluorescência (<i>fluorescence detection</i>)
FEUP	Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto
FID	Detetor de ionização de chama (<i>flame ionization detector</i>)
GC-MS	Cromatografia gasosa com deteção por espectrometria de massa (<i>gas chromatography-mass spectrometry</i>)
GPC	Cromatografia de permeação de gel (<i>gel permeation chromatography</i>)
H ₂ O	Água
Hex	Hexano
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência (<i>high-performance liquid chromatography</i>)
i.d.	Diâmetro interno (<i>inside diameter</i>)
K _{oc}	Coeficiente de partição octanol-carbono orgânico do solo
K _{ow}	Coeficiente de partição octanol-água
LD	Limite de deteção
LEPABE	Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia
LQ	Limite de quantificação
MAE	Extração assistida por micro-ondas (<i>microwave-assisted extraction</i>)
MeOH	Metanol
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
nd	não detetado
PAH(s)	Hidrocarboneto(s) aromático(s) policíclico(s) (<i>polycyclic aromatic hydrocarbons</i>)
PDA	Deteção por fotodíodos (<i>photodiode array</i>)

PLE	Extração com líquido pressurizado (<i>pressurized liquid extraction</i>)
POPs	Poluentes orgânicos persistentes
R ²	Coeficiente de correlação
Rec	Recuperação
Ref	Referência
RSD	Desvio padrão relativo (<i>relative standard deviation</i>)
S	Solubilidade em água
SBME	Microextração com barra de agitação (<i>solvent-bar microextraction</i>)
SBSE	Extração com barra de agitação (<i>stir bar sorptive extraction</i>)
SiO ₂	Sílica
SIS	Armazenamento de íões selecionados (<i>selected ion storage</i>)
SPE	Extração em fase sólida (<i>solid-phase extraction</i>)
SPME	Microextração em fase sólida (<i>solid-phase microextraction</i>)
TD	Dessorção térmica (<i>thermal desorption</i>)
TNT	Trinitrotolueno
Tol	Tolueno
US EPA	<i>United States Environmental Protection Agency</i>
USE	Ultrassons (<i>ultrasonic solvent extraction</i>)
UV	Ultravioleta

1 Introdução

1.1 Enquadramento e apresentação do projeto

O crescimento populacional, a urbanização, a industrialização e as exigências de uma sociedade moderna desencadeiam a emissão de vários poluentes, tais como os poluentes orgânicos persistentes (POPs), em diferentes matrizes ambientais (ar, água e solo), provocando a degradação ambiental e problemas de saúde humana (Wong, 2012).

Os POPs são compostos orgânicos que podem sofrer desgaste através de processos de degradação química, biológica e da luz solar. No entanto, são conhecidos por persistirem no ambiente por longos períodos, podendo ser inclusivamente transportados na atmosfera a grandes distâncias das fontes emissoras (Man e Wong, 2012). Devido aos efeitos nocivos associados à sua utilização, representam um risco para a saúde humana e para o meio ambiente (Brevik, 2012). Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e as fragrâncias (*musks*) fazem parte deste tipo de poluentes e serão objeto de estudo na presente dissertação devido às suas características.

Os PAHs fazem parte de uma classe de produtos químicos orgânicos complexos, que incluem carbono e hidrogénio, com uma estrutura em anel fundido que no mínimo contem dois anéis benzénicos (Ravindra *et al.*, 2008). Encontram-se naturalmente no ambiente mas também podem ser produzidos por diversas atividades humanas (Haritash e Kaushik, 2009).

Musk é a designação de uma imensa classe de substâncias utilizadas principalmente pela indústria da perfumaria. Originalmente era a essência natural produzida pela glândula exócrina do cervo-almiscarado (*Moschus moschiferus*), atualmente uma espécie protegida e em vias de extinção. Esta “nota” de essência animal criou a base para a composição de toda uma gama de novos odores. Naturalmente, a indústria da perfumaria viu-se forçada a produzir artificialmente substâncias perfumadas uma vez que o produto original, além de ser demasiado caro, não existia em quantidades suficientes para satisfazer o mercado (Schmeiser *et al.*, 2001).

Se os produtos animais e vegetais apresentam um risco menor para o ambiente, já os produtos sintéticos podem, por vezes, significar um impacto negativo importante sobre o mesmo. Os *musks* sintéticos não fogem a esta regra e o mesmo acontece com os PAHs. Sabendo-se, atualmente, que estes compostos podem contaminar os solos e, a partir daí, a cadeia alimentar, tentou-se nesta dissertação dar continuidade aos esforços de outros investigadores no sentido de encontrar uma técnica fiável para a extração de PAHs e de *musks* sintéticos no solo, de forma a poderem ser analisados e quantificados.

A maior parte dos estudos refletem o interesse deste tipo de análise em biota (Aguirre *et al.*, 2014), em lamas (Stevens *et al.*, 2003) e mesmo na água (Guo *et al.*, 2013a; Li *et al.*, 2010), sendo que o solo tem sido pouco estudado, principalmente para os *musks*. Assim, decidiu-se contribuir para o avanço das técnicas analíticas nas seguintes vertentes:

- Adaptação de um método de análise de PAHs e *musks* em solos, utilizando técnicas de extração como a ultrassons, anteriormente desenvolvida pelo grupo de investigação do Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia (LEPABE).
- Análise dos extratos obtidos por cromatografia gasosa com deteção por espectrometria de massa (GC-MS).
- Aplicação da metodologia adaptada para solos em amostras reais (de tipo urbano, industrial e rural).

1.2 Micropoluentes no solo

O solo pode ser definido como um meio natural, dificilmente renovável à escala humana. É talvez o componente do nosso planeta de mais difícil observação e estudo (quando comparado com o ar e a água). Por outro lado é também um componente do ambiente de utilização humana sistemática, nomeadamente para a produção de alimentos e fibras, desde o início do Neolítico, ou seja, nos últimos 10 000 anos (Ribeiro, 2005).

De um modo geral, este recurso natural é composto por três fases: sólida, líquida e gasosa, cada qual contendo constituintes orgânicos e inorgânicos, e compostos inertes e ativos. Assim, o solo pode considerar-se como sendo um ecossistema complexo com um determinado número de características que se relacionam entre si, e que são, numa outra análise, também as que influenciam a toxicidade de um determinado composto (Hillel, 2008). Segundo Litz *et al.* (2007) o teor de matéria orgânica do solo influencia a adsorção dos poluentes, sendo esta mais intensa em solos com maior teor de matéria orgânica do que em solos argilosos.

A presença de um poluente no solo pode ser amplamente definida como qualquer produto químico ou qualquer outra substância que, ou não é normalmente encontrada no solo, ou está presente em concentrações suficientemente elevadas para ser prejudicial para qualquer organismo vivo (Schwab, 2005).

De facto, o solo está exposto a uma série de fontes poluentes podendo a sua contaminação ser dividida em dois tipos: a poluição difusa e a poluição pontual. Ambas podem resultar em danos em várias funções dos mesmos e na contaminação de águas superficiais e subterrâneas (Connell, 2005d).

A poluição difusa dos solos é originada em fontes tais como a deposição de emissões atmosféricas provenientes de indústrias, águas das chuvas, tráfego rodoviário, centros urbanos e agrícolas, ou através da aplicação direta destas substâncias no solo, como por exemplo nas práticas agrícolas (aplicação de fertilizantes, pesticidas e lamas tratadas provenientes das estações de tratamento de águas residuais - ETARs). Já a poluição pontual apresenta alguns problemas na sua definição não se encontrando a nível europeu um consenso sobre este aspeto. Todavia, podem-se identificar pelo menos dois pontos em comum (Burgess, 2012; Connell, 2005d):

- Resulta de fontes relacionadas com a deposição de resíduos, atividades industriais, práticas militares e acidentes.
- Os seus maiores impactos são a poluição das águas subterrâneas resultantes da lixiviação dos poluentes do solo, os problemas de saúde humana e dos ecossistemas resultantes do contacto direto com o solo poluído, implicando a necessidade de se restringir alguns usos do solo.

Assim, a poluição pontual tem um ponto claramente identificável de descarga, que pode ser rastreada até à fonte específica, enquanto na poluição difusa, a sua origem pode não ser claramente identificada.

Cada vez com maior frequência os solos funcionam como o destino final de uma crescente gama de produtos químicos perigosos gerados, maioritariamente, por atividades humanas. De entre estes resíduos valerá a pena mencionar os PAHs e as fragrâncias sintéticas, mais comumente denominadas pela notação em língua inglesa, *musks*. Alguns destes poluentes são potenciais agentes carcinogénicos e devido à sua baixa solubilidade tendem a acumular-se nos solos. Estes compostos colocam em perigo não só o solo e a água, mas também a saúde humana, pois ao serem absorvidos por plantas e animais acumulam-se na cadeia alimentar, e após a ingestão dos alimentos podem entrar na corrente sanguínea ou no sistema linfático humano e incorporarem-se nos órgãos e tecidos (Bhandari e Xia, 2005; Bispo *et al.*, 1999). Para além da contaminação de alimentos e água, as populações humanas e ecossistemas naturais também podem ser expostos a contaminantes através da emissão de vapores, a dispersão de poeira e a captação direta através da pele (Connell, 2005a).

Milhares de compostos orgânicos potencialmente perigosos utilizados nos produtos domésticos e de higiene, resultantes das atividades comerciais/industriais são (intencionalmente ou não) evacuados diariamente nos esgotos sanitários que os conduzem para as ETARs. Muitos desses produtos não são totalmente degradados durante o tratamento, e devido à sua baixa solubilidade em água e alta lipofilicidade podem acumular-se nas lamas geradas (Bhandari e

Xia, 2005; Stevens *et al.*, 2003). Como uma alternativa à deposição em aterro, a aplicação das lamas municipais em solos para fins agrícolas está a tornar-se cada vez mais frequente. As lamas aplicadas no solo podem trazer alguns benefícios, como a melhoria das suas propriedades e o fornecimento de nutrientes essenciais para o crescimento das plantas, como o azoto, fósforo e outros. No entanto, como já referido, as lamas podem conter alguns contaminantes orgânicos tóxicos que não foram degradados durante o processo de tratamento das águas residuais, que irão prejudicar a qualidade do solo (Chen *et al.*, 2014).

1.2.1 Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

Os PAHs são poluentes ambientais emergentes que tanto provêm de origens naturais (incêndios florestais, erupções vulcânicas) como antropogénicas (combustão incompleta de combustíveis fósseis, emissões de veículos, pirólise de matéria orgânica ou processos industriais como a queima de madeira) (Wang *et al.*, 2007). Numa análise global, a queima de biomassa (resultante tanto da combustão de biocombustíveis como de incêndios florestais) contribui para 73,7% do total das emissões de PAHs globais. Não menos importantes são os produtos de consumo, o tráfego automóvel e a combustão de carvão, que juntos contribuem com 15,4% das emissões globais. As principais atividades industriais aportam menos de 10% (Ramesh *et al.*, 2011).

Os PAHs encontram-se em várias matrizes: na água, no ar, nos organismos e/ou no solo, e recentemente foram detetados *naphthalene*, *phenanthrene*, e outros PAHs de baixo peso molecular, em mamíferos marinhos e no tecido adiposo humano, o que indicia a sua alta exposição e persistência (Nakata *et al.*, 2014). Devido à sua natureza lipofílica, estes compostos tendem a manter-se ligados às lamas durante o tratamento das águas residuais, e permanecem nos solos durante meses ou mesmo anos se essas lamas forem utilizadas para o seu enriquecimento. Para além disso, os PAHs têm tendência a permanecer no solo superficial, ou seja, na camada do solo que é utilizada para a agricultura (Maliszewska-Kordybach *et al.*, 2009), o que ainda os torna mais suscetíveis de contaminarem plantas e animais. De acordo com Bispo *et al.* (1999), alguns destes compostos são carcinogénicos, tendem a acumular-se nos solos devido à sua baixa solubilidade e a sua degradação está dependente da atividade microbiana do substrato.

A presença destes compostos nos solos, assim como noutros sistemas naturais, é uma situação preocupante devido às suas características carcinogénicas, mutagénicas e teratogénicas (Lau *et al.*, 2010). Atendendo a essas potencialidades tóxicas, a *United States Environmental Protection Agency* (US EPA) publicou uma lista, onde considera os dezasseis PAHs estudados na presente dissertação, como poluentes prioritários (aqui identificados pelos termos em língua inglesa): *naphthalene*, *acenaphthylene*, *acenaphthene*, *fluorene*, *phenanthrene*,

anthracene, *fluoranthene*, *pyrene*, *benzo[a]anthracene*, *chrysene*, *benzo[k]fluoranthene*, *benzo[a]pyrene*, *indeno[1,2,3-cd]pyrene*, *dibenzo[a,h]anthracene* e *benzo[ghi]perylene*. A nível global, a China é um dos países que mais sofre com a contaminação de PAHs devido à queima de combustíveis fósseis e biomassa (Wang *et al.*, 2007).

Os PAHs são hidrofóbicos na natureza e apresentam uma solubilidade muito baixa em água e um coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) elevado. Desta forma, são fortemente adsorvidos pela matéria orgânica do solo e tornam-se menos suscetíveis à degradação química e biológica (Lau *et al.*, 2010). Enquanto os PAHs de baixo peso molecular têm uma persistência limitada no ambiente, os compostos de maior peso molecular são mais persistentes, e assim, mais suscetíveis à bioacumulação (Connell, 2005c).

Embora já se tenha verificado um decréscimo significativo na emissão destes compostos desde o final do século XX (Ravindra *et al.*, 2008), os efeitos positivos desta realidade ainda demorarão mais algumas décadas para se fazerem notar na qualidade dos solos. Na Europa, os solos agrícolas apresentam uma contaminação por PAHs significativamente mais baixa daquela que se regista em zonas consideradas poluídas (Maliszewska-Kordybach *et al.*, 2009), o que não significa que os esforços envidados para a proteção dos solos devam ser descurados nem exclui o risco de impactos negativos no ecossistema como um todo.

A *Tabela 1* resume as principais propriedades e características dos PAHs estudados nesta dissertação e que são de grande interesse para a saúde humana e ambiental.

Tabela 1 - Propriedades dos PAHs (EPI SuiteTM v4.11).

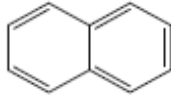
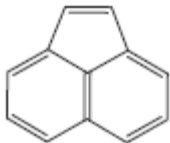
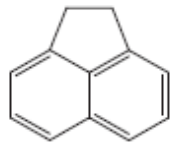
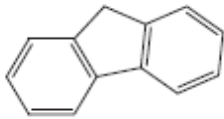
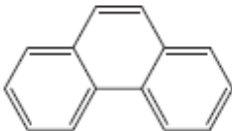
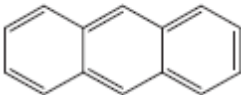
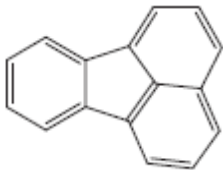
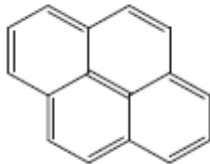
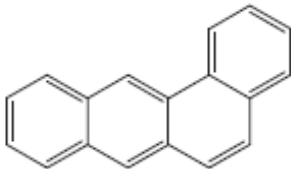
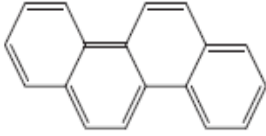
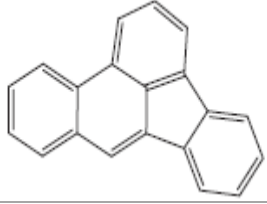
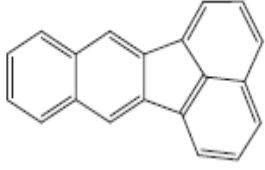
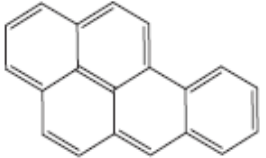
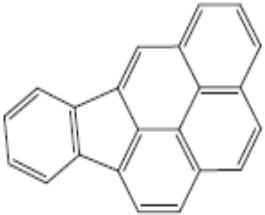
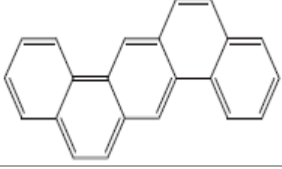
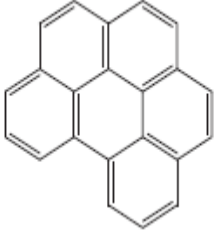
Nome comum Fórmula molecular Número CAS Peso molecular (g.mol ⁻¹)	Estrutura molecular	Ponto ebulição (°C)	S (mg.L ⁻¹) (25 °C)	Pressão vapor (mmHg) (25 °C)	Log K _{ow}	Log K _{oc}
Naphthalene C ₁₀ H ₈ 91-20-3 128,18		218	3,10x10 ¹	8,50x10 ⁻²	3,30	2,86
Acenaphthylene C ₁₂ H ₈ 208-96-8 152,20		280	1,61x10 ¹	6,68x10 ⁻³	3,94	3,42
Acenaphthene C ₁₂ H ₁₀ 83-32-9 154,21		279	3,90x10 ⁰	2,15x10 ⁻³	3,92	3,40
Fluorene C ₁₃ H ₁₀ 86-73-7 166,22		295	1,69x10 ⁰	6,00x10 ⁻⁴	4,18	3,63
Phenanthrene C ₁₄ H ₁₀ 85-01-8 178,24		340	1,15x10 ⁰	1,21x10 ⁻⁴	4,46	3,87
Anthracene C ₁₄ H ₁₀ 120-12-7 178,24		340	4,34x10 ⁻² (24 °C)	6,53x10 ⁻⁶	4,45	3,86
Fluoranthene C ₁₆ H ₁₀ 206-44-0 202,26		384	2,60x10 ⁻¹	9,22x10 ⁻⁶	5,16	4,48
Pyrene C ₁₆ H ₁₀ 129-00-0 202,26		404	1,35x10 ⁻¹	4,50x10 ⁻⁶	4,88	4,24
Benzo[a]anthracene C ₁₈ H ₁₂ 56-55-3 228,30		438	9,40x10 ⁻³	2,10x10 ⁻⁷	5,76	4,99

Tabela 1 - Propriedades dos PAHs (EPI Suite™ v4.11) (continuação).

Nome comum Fórmula molecular Número CAS Peso molecular (g.mol ⁻¹)	Estrutura molecular	Ponto ebulição (°C)	S (mg.L ⁻¹) (25 °C)	Pressão vapor (mmHg) (25 °C)	Log K _{ow}	Log K _{oc}
Chrysene C ₁₈ H ₁₂ 218-01-9 228,30		448	2,00 x10 ⁻³	6,23 x10 ⁻⁹	5,81	5,04
Benzo[b]fluoranthene C ₂₀ H ₁₂ 205-99-2 252,32		443	1,20 x10 ⁻³	1,81 x10 ⁻⁸	5,78	5,02
Benzo[k]fluoranthene C ₂₀ H ₁₂ 119-47-1 340,51		445	2,00 x10 ⁻²	2,48 x10 ⁻⁹	6,25	4,72
Benzo[a]pyrene C ₂₀ H ₁₂ 50-32-8 252,31		495	1,62 x10 ⁻³	5,49 x10 ⁻⁹	6,13	5,32
Indeno[1,2,3-cd]pyrene C ₂₂ H ₁₂ 193-39-5 276,34		536	1,90 x10 ⁻⁴	1,25 x10 ⁻¹⁰	6,70	5,81
Dibenzo[a,h]anthracene C ₂₂ H ₁₄ 53-70-3 278,36		524	2,49 x10 ⁻³	9,55 x10 ⁻¹⁰	6,75	5,68
Benzo[ghi]perylene C ₂₂ H ₁₂ 191-24-2 276,34		>500	2,60 x10 ⁻⁴	1,00 x10 ⁻¹⁰	6,63	5,75

1.2.2 *Musks*

Os *musks* são uma classe de substâncias aromáticas muito utilizadas na indústria da perfumaria. Estas substâncias podem provir de produtos vegetais, de secreções glandulares de certos animais ou de fabrico sintético. As fragrâncias sintéticas surgiram da necessidade de se substituírem as naturais, não só pela sua onerosidade, como também pelas grandes quantidades requeridas pela indústria. O primeiro *musk* sintético (*moskene*) foi criado por Baur em 1888, mas a sua produção e utilização foi significativa apenas a partir de 1950 (Che *et al.*, 2011). Foi descoberto de uma forma accidental quando Baur tentava sintetizar uma variante de TNT mais eficaz (Käfferlein *et al.*, 1998).

A contaminação dos solos por *musks* é uma realidade, embora este não seja o único recurso natural afetado por estes compostos (Chase *et al.*, 2012). Na verdade, eles podem também encontrar-se na água, no ar e mesmo em biota, uma vez que são facilmente absorvidos pelos organismos e transportados através das cadeias alimentares (Chase *et al.*, 2012). Os *musks* não se degradam através dos tratamentos químicos ou biológicos aplicados nas ETARs (Zhang *et al.*, 2013), pelo que, uma vez lançados na rede pública de esgotos irão certamente aparecer e contaminar águas, solos e organismos.

Do ponto de vista químico são compostos orgânicos que, devido ao seu forte poder de fixação e aroma, são utilizados comercialmente nos produtos de higiene pessoal, perfumes e detergentes (Wang *et al.*, 2013). Com base na sua estrutura são, geralmente, divididos em quatro grupos (Dong *et al.*, 2014; Yang e Metcalfe, 2006):

- *Musks* policíclicos (*cashmeran*, *celestolide*, *galaxolide*, *phantolide*, *tonalide* e *traseolide*).
- Nitromusks ou fragrâncias azotadas (*musk ambrette*, *musk ketone*, *musk moskene*, *musk tibetene* e *musk xylene*).
- *Musks* macrocíclicos (potencial de efeitos ambientais mais reduzido do que nos dois grupos anteriores).
- *Musks* alicíclicos.

Embora os *musks* sintéticos façam parte da nossa utilização diária há mais de um século, apenas recentemente se tomou consciência de que o seu uso pode representar um perigo para o ambiente. Por ser um tema tão recente na comunidade científica ainda há pouca informação sobre os seus efeitos toxicológicos e mesmo a legislação é escassa (Aguirre *et al.*, 2014).

Estes novos contaminantes são muitas vezes detetados, em baixas concentrações, nas águas residuais. No entanto, constituem uma fonte de exposição constante. Também têm sido detetados em tecidos animais, incluindo minhocas, peixes, mexilhões e mamíferos marinhos e ainda nos seres humanos, no tecido adiposo, no sangue e no leite materno (Chase *et al.*, 2012).

Os *musks* são poluentes bastante lipofílicos e hidrofóbicos que podem causar distúrbios hormonais (Guo *et al.*, 2013a), dermatites, cancro e apresentam uma elevada taxa de bioacumulação e persistência (Schnell *et al.*, 2009).

Das quatro classes apresentadas anteriormente, os *musks* policíclicos e os *nitromusks* são os mais utilizados e também os que têm levantado mais problemas ambientais e de saúde, devido aos seus potenciais riscos, pois são xenobióticos, bioacumulativos e persistentes no ambiente (Dong *et al.*, 2014).

1.2.2.1 *Musks* policíclicos

Os *musks* policíclicos foram detetados pela primeira vez em 1994 (Che *et al.*, 2011). Estes compostos continuam a ser fortemente utilizados, principalmente o *galaxolide* e o *tonalide*. No mercado europeu representam 95% do mercado, sendo que no final de 1990 foram produzidas cerca de 1800 toneladas/ano enquanto nos Estados Unidos da América (EUA) representam 90%, e em 2000 foram utilizadas 6500 toneladas (Guo *et al.*, 2013a).

Apesar de serem utilizados em grandes quantidades na nossa sociedade atual, pouco se sabe acerca dos efeitos dos *musks* sintéticos na saúde humana. O *galaxolide* e o *tonalide* têm sido estudados pela comunidade científica com algum interesse e Ayuk-Takem *et al.* (2012) referem estudos onde estes compostos foram encontrados no leite materno ($44 \mu\text{g.g}^{-1}$), no tecido adiposo humano ($0,033 \mu\text{g.g}^{-1}$) e em peixes para consumo humano (entre 290 ng.g^{-1} e 2100 ng.g^{-1}).

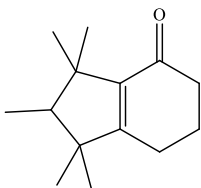
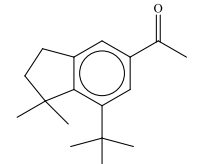
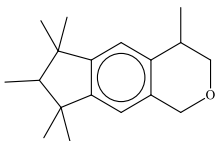
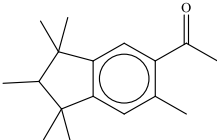
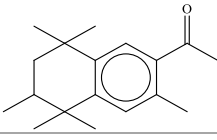
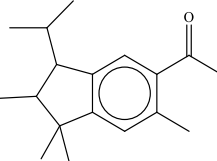
O *galaxolide* e o *tonalide* não estão classificados como poluentes muito tóxicos, no entanto, em alguns casos pode ocorrer esse efeito (HERA, 2004). O consumidor comum é exposto a estes dois compostos principalmente pela utilização de produtos de limpeza e fragrâncias utilizadas nos produtos de tratamento de roupas. Todavia, os dados toxicológicos disponíveis demonstram que estes dois compostos não são irritantes para os olhos nem para a pele, assim como não apresentam fototoxicidade em concentrações bem acima do que seria esperado encontrar pela utilização normal de produtos contendo fragrâncias (HERA, 2004).

Os *musks celestolide*, *phantolide* e *traseolide* são os que apresentam um comportamento menos perigoso. Contudo, o indivíduo é exposto a estes compostos quase constantemente através da pele e da inalação de pó, embora não haja dados concretos a este respeito.

Assim, a maioria da informação sobre os efeitos na saúde humana é sempre conseguida tendo por base a experiência adquirida sobre a estrutura química dos compostos (Kevekordes *et al.*, 1997).

A Tabela 2 resume as principais propriedades e características dos *musks* policíclicos.

Tabela 2 - Propriedades dos musks policíclicos (EPI Suite™ v4.11).

Nome comum Fórmula molecular Número CAS Peso molecular (g.mol ⁻¹)	Estrutura molecular	Ponto ebulição (°C)	S (mg.L ⁻¹) (25 °C)	Pressão vapor (mmHg) (25 °C)	Log K _{ow}	Log K _{oc}
Cashmeran C ₁₄ H ₂₂ O 33704-61-9 206,33		278	5,94	4,03x10 ⁻³	4,49	3,60
Celestolide C ₁₇ H ₂₄ O 13171-00-1 244,38		319	0,220	1,44x10 ⁻⁴	5,93	4,40
Galaxolide C ₁₈ H ₂₆ O 1222-05-5 258,41		325	1,75	5,45x10 ⁻⁴	5,90	4,10
Phantolide C ₁₇ H ₂₄ O 15323-35-0 244,38		318	0,254	1,47x10 ⁻⁴	5,85	4,36
Tonalide C ₁₈ H ₂₆ O 21145-77-7 258,41		332	1,25	5,12x10 ⁻⁴	5,70	4,27
Traseolide C ₁₈ H ₂₆ O 68140-48-7 258,41		330	0,0869	6,83x10 ⁻⁵	6,31	4,61

1.2.2.2 Nitromusks

Em 1981, a presença de nitromusks em amostras biológicas e águas de rio foi confirmada pela primeira vez por cientistas japoneses (Che *et al.*, 2011).

Os nitromusks detêm uma longa história, mas o seu uso tem diminuído nos últimos anos devido à sua toxicidade (Yang e Metcalfe, 2006). Como resultado da sua toxicidade alguns deles foram proibidos, ou a sua utilização restringida (Che *et al.*, 2011). Por exemplo, na Europa a regulamentação EC 1223/2009 proibiu a utilização dos musks *ambrette*, *moskene* e *tibetene*, e a China, assim como outros países, seguindo a mesma regulamentação legislaram sobre as quantidades máximas permitidas de resíduos destes compostos. Já os musks *ketone* e *xylene* podem ser utilizados nos cosméticos, mas numa gama de concentrações muito limitada (Dong *et al.*, 2014).

O *musk ketone* e o *musk xylene* são os compostos mais utilizados da sua classe. O *musk ketone* é usado principalmente em produtos cosméticos, enquanto o *musk xylene* é usado principalmente em detergentes e sabões. Os efeitos cancerígenos a longo prazo da sua utilização e o fato de se degradarem fotoquimicamente não podem ser menosprezados (Schnell *et al.*, 2009; Yang e Metcalfe, 2006).

Na *Tabela 3* encontram-se resumidas as principais propriedades e características dos nitromusks.

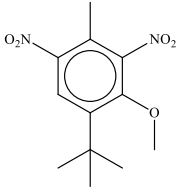
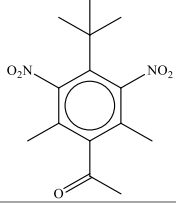
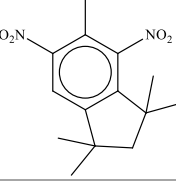
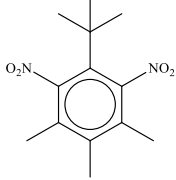
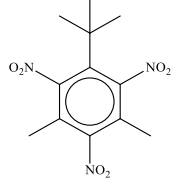
1.2.2.3 Musks macrocíclicos

Os musks macrocíclicos são, do ponto de vista químico, semelhantes aos que ocorrem naturalmente em animais e plantas e, por isso, apresentam uma estabilidade química mais elevada (Roosens *et al.*, 2007). Dado que a sua produção é muito onerosa, estes compostos apenas representam uma pequena parte dos musks sintéticos existentes no mercado (3-4%) e são reservados para o fabrico de perfumes (Abramsson-Zetterberg e Slanina, 2002).

1.2.2.4 Musks alicíclicos

Os musks alicíclicos, também denominados por musks lineares, constituem uma classe de fixadores de fragrâncias mais recente. O primeiro composto deste grupo a ser sintetizado foi o *cyclomusk*, apenas em 1975. A sua introdução no mercado ainda levou algum tempo e foi apenas em 1990 que começaram a ser comercializados com o composto *helvetolide*. Do ponto de vista estrutural são muito diferentes dos outros musks, sendo os únicos que apresentam uma estrutura linear (Kraft, 2004). Talvez devido a esta particularidade estes compostos apresentam uma maior insolubilidade em água.

Tabela 3 - Propriedades dos nitromusks (EPI Suite™ v4.11).

Nome comum Fórmula molecular Número CAS Peso molecular (g.mol ⁻¹)	Estrutura molecular	Ponto ebulição (°C)	S (mg.L ⁻¹) (25 °C)	Pressão vapor (mmHg) (25 °C)	Log K _{ow}	Log K _{oc}
Musk ambrette C ₁₂ H ₁₆ N ₂ O ₅ 83-66-9 268,27		185	2,11	1,31x10 ⁻⁵	4,17	3,73
Musk ketone C ₁₆ H ₃₀ O 541-91-3 238,42		329	0,221	4,69x10 ⁻⁴	5,96	4,42
Musk moskene C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₄ 116-66-5 278,31		377	0,166	2,49x10 ⁻⁶	5,39	4,34
Musk tibetene C ₁₃ H ₁₈ N ₂ O ₄ 145-39-1 266,30		368	0,295	3,92x10 ⁻⁶	5,18	4,23
Musk xylene C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₆ 81-15-2 297,27		412	0,821	6,35x10 ⁻⁷	4,45	3,82

1.3 Metodologia analítica para a determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e *musks* em solos

Com o rápido desenvolvimento da ciência e da tecnologia e com os novos processos industriais e produtos sintéticos que estão constantemente a ser desenvolvidos, cada vez mais poluentes, tais como PAHs e *musks*, são gerados e libertados no meio ambiente. Tendo em conta a sua toxicidade, uma análise nas matrizes ambientais (como o solo) é de grande interesse.

O método de quantificação eleito pela maioria dos investigadores dedicados à análise de PAHs e *musks* é a cromatografia de fase gasosa acoplada com a detecção por espectrómetro de massa. Esta técnica tem demonstrado ao longo dos anos ser uma das melhores para análise de compostos suficientemente voláteis para serem transferidos diretamente para a fase gasosa sem originarem subprodutos (Buchberger, 2011).

Para que o método de análise seja efetuado com sucesso é necessário previamente ao método de análise instrumental a extração do composto em estudo da amostra, seguida da limpeza (*clean-up*) do extrato. A falta deste tratamento prévio pode causar a perda de sensibilidade do detetor, encurtar o tempo de vida da coluna cromatográfica (aumentando assim a frequência de manutenções técnicas no equipamento) e deteriorar a resolução de resultados (Patnaik, 2010c), pois compostos indesejados presentes na amostra podem coeluir com os de estudo e prejudicar a resolução cromatográfica.

1.3.1 Técnicas de extração

São utilizados vários métodos de extração de PAHs e *musks* em solos, mas os mais usuais são a extração Soxhlet, ultrassons, com solvente acelerada (ASE) ou em alternativa recorre-se à extração por fluido super e subcrítico, assistida por micro-ondas (MAE), dessorção térmica, pirólise de *flash* ou extração em leito fluidizado (Lau *et al.*, 2010).

A escolha do método de extração deverá ser uma decisão bastante ponderada, pois alguns dos métodos acima mencionados são demorados, exaustivos, caros e produzem quantidades consideráveis de resíduos (Aguirre *et al.*, 2014). Além disso, há que ter em conta vários fatores que influenciam a extração como a temperatura, o tipo de solvente utilizado ou as características do solo (Lau *et al.*, 2010).

De seguida, serão apresentadas as técnicas de extração utilizadas durante o desenvolvimento da presente dissertação.

1.3.1.1 Extração por Soxhlet

A extração por Soxhlet tem sido uma referência na extração de contaminantes orgânicos em amostras sólidas como o solo (Crompton, 2012).

Esta técnica consiste em introduzir a amostra num tubo Soxhlet, que é extraída através de um determinado solvente, pelo seu refluxo. Quando o solvente evapora, os seus vapores passam pelo sifão do tubo que está ligado ao condensador, são então condensados e retornam para o balão.

Quando o solvente atinge o topo do sifão, solvente e extrato são refluxados para o balão por meio do solvente evaporado, e o ciclo é repetido até que toda a amostra seja completamente extraída (*Figura 1*) (Lau *et al.*, 2010).

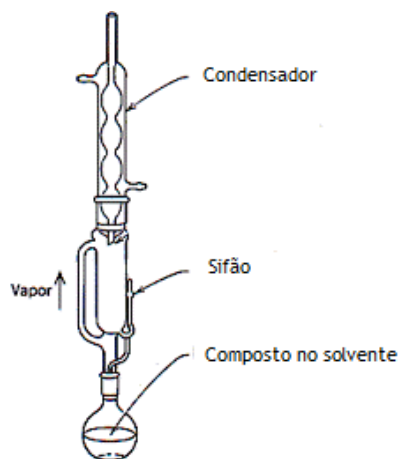


Figura 1 - Extração por Soxhlet. Adaptado de ChemWiki (2014).

Uma vez que um dos princípios fundamentais para a escolha do solvente de extração é que “semelhante dissolve semelhante”, a polaridade do solvente em concordância com a polaridade do analito também influencia o sucesso da faixa de eficiência do método (Lau *et al.*, 2010). Como tal, para a extração de compostos orgânicos, o solvente é tipicamente uma mistura de compostos apolares ou ligeiramente polares, como por exemplo o diclorometano (DCM), hexano (Hex), metanol (MeOH) ou acetona (Ac), em que as misturas não podem ser de solventes com polaridades diametralmente opostas. Outro fator determinante é o ponto de ebulição, pois no final da extração a gama de compostos recolhida terá um ponto de ebulição superior ou semelhante do solvente utilizado (Dawson *et al.*, 2003).

As principais desvantagens deste método de extração são: é um processo relativamente demorado (para que a extração seja eficiente são necessárias, em alguns casos, 24 horas), é uma técnica exaustiva e requer grandes volumes de solventes orgânicos para uma amostra (Lau *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2007). Apesar disso, continua a estar no topo das preferências, pois permite analisar a amostra seja qual for a sua matriz e é uma técnica robusta e eficaz (Dawson *et al.*, 2003).

De forma a reduzir a utilização de solventes orgânicos e aumentar a velocidade de análise, outros métodos de extração têm sido propostos, como a técnica ultrassons.

1.3.1.2 Extração por ultrassons

Tal como a técnica Soxhlet, também a técnica de extração por ultrassons é utilizada para a extração de compostos orgânicos (Dawson *et al.*, 2003). A extração ultrassons é uma técnica que combina a energia acústica de ondas de ultrassons com uma frequência mínima de 16 kHz no fluido, causando a cavitação no mesmo, uma compressão rápida e rarefação do movimento com a formação e reprodução de microbolhas, que colapsam umas com as outras (Lau *et al.*, 2010).

A extração por ultrassons é mais eficaz que a extração por Soxhlet, pois é menos trabalhosa, mais económica e segundo um estudo realizado por Babić *et al.* (1998) os extratos obtidos por ultrassons poderão, em alguns casos, ser utilizados em cromatografia sem ser necessário um *clean-up* adicional. No entanto, a eficiência de extração, embora seja dependente da técnica utilizada, é também influenciada por outros parâmetros como sejam o tipo de matriz da amostra, a concentração de contaminantes, o tipo de contaminantes ou a estrutura molecular dos mesmos (Babić *et al.*, 1998). Por outro lado, diversos estudos sugerem que se obtém uma extração mais baixa de contaminantes do que por Soxhlet, principalmente para PAHs com um peso molecular baixo (Smith *et al.*, 2006; Stephens Jr *et al.*, 1994). Também deve ser dada atenção à amplitude da potência e à duração do processo de forma a evitar uma exposição prolongada da amostra à irradiação, pois desta forma pode ocorrer a degradação dos contaminantes na amostra e consequentemente reduzir-se a sua taxa de extração. Esta diminuição de eficiência da técnica prende-se ao aumento das partículas de carbono que ao quebrarem, colocam-se na superfície de contato que adsorvem os compostos, provocando um ciclo de adsorção dos mesmos (Che *et al.*, 2011; Lau *et al.*, 2010).

Caso o extrato obtido contenha interferências suspeitas de prejudicar a análise, que possam comprometer o funcionamento do equipamento ou induzir resultados débeis, um *clean-up* é necessário. As respetivas técnicas empregues no decorrer do presente trabalho serão brevemente apresentadas de seguida.

1.3.2 *Clean-up*

Para o efeito utilizam-se técnicas de limpeza como a extração em fase sólida (SPE) e a cromatografia de permeação gel (GPC). Enquanto o SPE atende às características do analito, o GPC tem em conta o tamanho das moléculas, sendo que ao conjugar estes dois métodos, pode melhorar-se o resultado do *clean-up* (Patnaik, 2010d).

Nesta fase utilizam-se técnicas de evaporação, para que seja reduzido o volume de extrato a analisar.

Este processo pode resultar em perdas do analito a analisar devido à sua volatilidade, pelo que é uma etapa que tem de ser realizada com muita precaução (Aguirre *et al.*, 2014).

No SPE, os poluentes orgânicos presentes na amostra são adsorvidos sobre a superfície sólida, a partir da qual eles são eluídos com um solvente selecionado adequadamente. A escolha do adsorvente é baseada na polaridade dos poluentes a serem analisados. Os adsorventes hidrofóbicos apolares retêm os analitos apolares e permitem que as substâncias polares passem através da coluna, ao passo que os adsorventes hidrofílicos adsorvem os componentes polares, permitindo a passagem de materiais não polares. Por exemplo, se o interesse é reter compostos polares, adsorventes como a sílica (SiO_2), florissil e alumina (Al_2SO_3) são utilizados (Dawson *et al.*, 2003; Patnaik, 2010c).

A técnica GPC consiste numa separação, baseada no tamanho dos géis hidrofóbicos porosos. O tamanho dos poros tem de ser maior do que o tamanho dos poros das moléculas a serem separadas. Tal como no SPE, a eluição é levada a cabo usando um solvente adequado, e o eluato é concentrado para posterior análise (Dawson *et al.*, 2003; Patnaik, 2010c).

Juntamente com as técnicas de extração e *clean-up* estão os métodos instrumentais de análise, que permitirão identificar e quantificar os compostos nas amostras em estudo.

1.3.3 Análise por cromatografia gasosa com deteção por espetrometria de massa

Como referido anteriormente, a cromatografia em fase gasosa é a técnica analítica mais comum para a determinação quantitativa de poluentes orgânicos em amostras não aquosas e é uma técnica altamente versátil (Patnaik, 2010a). O método é baseado na separação de misturas por meio da técnica de cromatografia em compostos que podem ser identificados e quantificados (Connell, 2005b). Um espectrómetro de massa deve ser usado sempre que possível de forma a identificar os compostos corretamente (Patnaik, 2010d).

O método baseia-se no princípio de separação cromatográfica dos componentes de uma mistura numa coluna cromatográfica, seguida pela sua identificação a partir dos seus espectros de massa. Os compostos são separados numa coluna adequada, e após a eluição na coluna, são submetidos a um impacto de eletrões ou ionização química. Os iões fragmentados e moleculares são identificados a partir dos espectros de massa característicos para cada composto. Assim, as substâncias presentes na amostra são determinadas a partir dos seus iões primários e secundários característicos, e dos seus tempos de retenção - tempo que o composto demora a passar pela coluna e é característico para cada componente (Patnaik, 2010b; Wrzosek *et al.*, 2013).

Assim, os cromatógrafos têm dois componentes importantes: o sistema de separação e o sistema de deteção (Connell, 2005b).

Os principais componentes de um cromatógrafo gasoso com espectrometria de massa (*Figura 2*) são (Dawson *et al.*, 2003):

- Fase móvel (gás). Por norma é utilizado um gás de baixa densidade, como o hélio (Patnaik, 2010d).
- O injetor (onde ocorre a vaporização da amostra). Após a preparação das amostras e limpeza, a amostra está pronta para injeção.
- O forno.
- A coluna cromatográfica. A natureza da coluna vai determinar o êxito da separação. As colunas são compostas por sílica fundida e por norma, quanto menor o seu diâmetro interno (i.d.), maior é o grau de resolução que pode ser alcançado (Dawson *et al.*, 2003).
- O detetor. O mais utilizado é o espectrómetro de massa. Esta é uma excelente ferramenta para a identificação de uma variedade de compostos desconhecidos na matriz em estudo.
- Análise cromatográfica e quantificação. Atualmente a cromatografia é controlada por computador, e os cromatogramas resultantes são analisados automaticamente por um sistema de *software* apropriado (Dawson *et al.*, 2003). À medida que cada composto passa pela coluna e é detetado, o sistema de gravação de dados regista um pico, como mostrado na *Figura 2*. A quantidade do composto pode ser quantificada através das áreas dos picos no cromatograma produzido, em relação a uma calibração prévia com padrões dos compostos-alvo (Patnaik, 2010d).

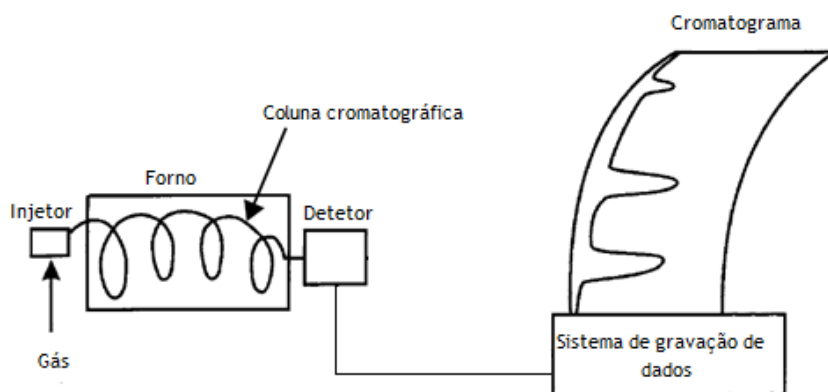


Figura 2 - Esquema representativo de GC-MS. Adaptado de Connell (2005b).

A vantagem da cromatografia é a sua seletividade, permitindo a separação de misturas muito complexas, numa única etapa. No entanto, o custo e a manutenção do cromatógrafo pode revelar-se elevado (Patnaik, 2010a, b).

2 Estado da Arte

No presente capítulo irão ser apresentadas as metodologias aplicadas para a extração de PAHs e *musks* em solos, focando-se a análise no método de extração, *clean-up*, análise instrumental e concentrações detetadas dos poluentes anteriormente mencionados na matriz em estudo. Tendo em conta o efeito negativo que estes compostos podem acarretar à saúde humana e ambiental, é de extrema importância o seu estudo e o seu comportamento no solo.

2.1 Determinação de PAHs em solos

Devido à extensa literatura sobre PAHs nos solos, uma visão geral da análise desde 2009 foi realizada. Na *Tabela 4* estão sintetizados os artigos recolhidos a respeito, com referências a diferentes características das metodologias analíticas apresentadas. A maioria dos artigos estudados tem como análise os 16 PAHs considerados pela US EPA como poluentes prioritários.

Há uma ampla variedade de metodologias aplicadas à extração de PAHs em solos. Nesta pesquisa a grande maioria das técnicas utilizadas foram Soxhlet e ultrassons. Com um uso muito menor detetaram-se também técnicas de extração com recurso a solventes (Shang *et al.*, 2014), ASE (Choi, 2014; Musa Bandowe *et al.*, 2010; Riccardi *et al.*, 2013; Wilcke *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2012), extração com líquido pressurizado (PLE) (Albero *et al.*, 2012; Barco-Bonilla *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2013), MAE (Ene *et al.*, 2012a; Ene *et al.*, 2012b), microextração com barra de agitação (SBME) (Guo e Lee, 2013) e microextração em fase sólida (SPME) (Guo *et al.*, 2013b).

Na análise efetuada detetou-se que a técnica de extração mais utilizada pelos autores foi a Soxhlet. Segundo Jiang *et al.* (2009), Kwon e Choi (2014) e Peng *et al.* (2011, 2012) esta técnica oferece elevadas recuperações (57 a 119%), no entanto, apresenta como desvantagens o facto de utilizar grandes volumes de solventes orgânicos para a extração dos compostos em estudo, quando comparada com as restantes técnicas (65 a 300 mL) e é um processo moroso (8 a 72 horas). No entanto, autores como Peng *et al.* (2011, 2012), Liu *et al.* (2010) e Maliszewska-Kordybach *et al.* (2009), ao utilizarem uma técnica de extração por Soxhlet automático, verificaram um decréscimo do consumo de reagentes (70 a 125 mL) e um tempo de extração bastante mais rápido (2 horas a 140 min), para além de que esta alternativa também apresenta recuperações elevadas (74 a 119%).

Os solventes mais utilizados para a extração foram o DCM (Ma *et al.*, 2014; Ma e Zhou, 2011; Maliszewska-Kordybach *et al.*, 2009; Orecchio, 2010b) e o Hex (Jiang *et al.*, 2009), assim como misturas de hexano/diclorometano/acetona (Hex/DCM/Ac) (Wei *et al.*, 2014), hexano/acetona (Hex/Ac) (Cachada *et al.*, 2012a) ou diclorometano/acetona (DCM/Ac) (Peng *et al.*, 2011).

Em alternativa à técnica Soxhlet, alguns autores utilizaram a técnica de ultrassons (Agarwal, 2009; Agarwal *et al.*, 2009; Barco-Bonilla *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2010; Musa Bandowe *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2014a; Yuan *et al.*, 2014b; Zhang *et al.*, 2014). As recuperações desta técnica apresentam-se muito semelhantes à técnica anterior (56 a 118%), com a grande vantagem do reduzido volume de solvente utilizado (10 a 60 mL) e curto tempo de extração (4 a 45 min). Os autores utilizam o mesmo tipo de solventes que para o Soxhlet, com a diferença de Musa Bandowe *et al.* (2010), Agarwal *et al.* (2009) e Agarwal (2009), que optaram pela utilização de tolueno (Tol). Apesar da diferença na utilização de solventes, as recuperações foram muito semelhantes em relação aos anteriormente utilizados (79 a 110%).

As restantes técnicas utilizadas apresentam recuperações no mesmo intervalo que Soxhlet e ultrassons, à exceção da técnica SPME, que embora apresente valores satisfatórios (60 a 75%), não iguala a efetividade das técnicas anteriormente descritas. Os solventes utilizados são idênticos às técnicas anteriores e apresentam um tempo de extração reduzido. Estas técnicas não são tão utilizadas como Soxhlet e ultrassons talvez devido a que as suas *performances* não apresentam, em geral, valores tão satisfatórios.

Terminada a etapa de extração, o extrato obtido para além de conter os compostos em estudo, acaba muitas vezes por conter impurezas que poderão influenciar negativamente a análise. Para tal, os autores recorrem ao *clean-up* da amostra. O processo mais utilizado é baseado na SPE, maioritariamente realizado em coluna, à exceção de Cachada *et al.* (2012a), que utilizou cartuchos comerciais. Os adsorventes mais utilizados foram a SiO₂ (Wilcke *et al.*, 2014) e a Al₂O₃ (Riccardi *et al.*, 2013), sendo que alguns dos autores utilizaram-nos em conjunto (Ma e Zhou, 2011; Wang *et al.*, 2014). As quantidades utilizadas variaram entre 1 e 10 g. Apenas Wang *et al.* (2009) utilizou para o *clean-up* das suas amostras uma mistura de 2 g de SiO₂ com 4 g de florisil.

Como solvente de eluição, o mais utilizado foi a mistura hexano/diclorometano (Hex/DCM), com volumes entre 8 a 200 mL. Embora em minoria, outros autores optaram por diferentes misturas de solventes, como hexano/tolueno (Hex/Tol) (Agarwal, 2009; Agarwal *et al.*, 2009).

A fim de melhorar o *clean-up*, Korosi *et al.* (2013) recorreram ao GPC antes de SPE com SiO₂. Grande parte dos autores utilizou sulfato de sódio (Na₂SO₄) nas suas amostras (quantidades entre 0,5 g e 3 g), de modo a remover a humidade presente na amostra.

Após extração e *clean-up*, como passo final da metodologia recorre-se à análise instrumental do extrato. A detecção de PAHs por GC-MS foi a análise mais utilizada. No entanto, autores como Pan *et al.* (2013), Agarwal *et al.* (2009) e Agarwal (2009) recorreram à cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Independentemente da técnica de extração, o tipo de solventes utilizados ou a realização de *clean-up* à amostra, o grande objetivo da metodologia aplicada é a determinação da concentração de PAHs na matriz em estudo. Como tal, o local onde a amostra é recolhida e em que condições influenciam o resultado final. A literatura analisada nesta dissertação foca-se no estudo de solos do tipo rural, agrícola, urbano e industrial.

Em zonas rurais, Wilcke *et al.* (2014) detetaram concentrações médias de $7,5 \text{ ng.g}^{-1}$, em que o *naphthalene* foi o PAH mais detetado. Na China, Wang *et al.* (2014) detetaram uma concentração média de $59,9 \text{ ng.g}^{-1}$ e Yuan *et al.* (2014a) de $6,04 \text{ ng.g}^{-1}$ sendo que neste último o PAH mais presente foi o *pyrene* e por fim o *acenaphthylene*.

Kwon e Choi (2014) realizaram uma análise das concentrações de solos rurais, urbanos e industriais na Coreia do Sul, onde encontraram concentrações médias de 220 ng.g^{-1} , 390 ng.g^{-1} e 1900 ng.g^{-1} , respetivamente. Através desta análise é bem evidente que as áreas industriais apresentam maior incidência de PAHs que as urbanas e rurais. Fontes pirogénicas e emissões de tráfego automóvel são os principais responsáveis por estes valores obtidos e o composto mais dominante nas amostras foi o *naphthalene*. Também Mebarka *et al.* (2012) fizeram comparações entre solos rurais, agrícolas, urbanos e industriais, chegando a valores de concentração total de 246 ng.g^{-1} , 386 ng.g^{-1} , 742 ng.g^{-1} e 10724 ng.g^{-1} , respetivamente. Todas as amostras analisadas apresentaram elevados valores de PAHs, incluindo a presença de *benzo[a]pyrene*, que é um composto com um forte potencial carcinogénico. Agarwal (2009) detetou concentrações médias no valor de 886 ng.g^{-1} e 4694 ng.g^{-1} , em solos rurais e urbanos, respetivamente, de forma a poder analisar o impacto do tráfego automóvel na poluição do solo. Os PAHs mais detetados no solo urbano foram os que continham cinco e seis anéis aromáticos na sua estrutura, sendo que contribuíram com uma percentagem superior a 50% do total analisado. Por outro lado, a análise em solos rurais demonstrou a predominância de PAHs de baixo peso molecular (dois e três anéis aromáticos), sendo que estes também apresentaram uma percentagem total superior a 50%. Orecchio (2010a) analisou as concentrações médias numa reserva natural (141 ng.g^{-1}) e comparou com uma zona rural (101 ng.g^{-1}). Detetou uma maior presença de PAHs com quatro e cinco anéis aromáticos na reserva natural. O mesmo autor encontrou concentrações da soma de 23 PAHs em solos rurais (101 ng.g^{-1}), de um jardim botânico (num intervalo de 947 a 18072 ng.g^{-1}) e de um solo urbano (2157 ng.g^{-1}).

Os valores encontrados para o jardim botânico excedem o valor recomendável pela legislação italiana para áreas verdes e conclui-se que o fato do local em causa se encontrar a poucos metros de uma grande fábrica de produção de gás, influenciou os valores de PAHs encontrados, devido às suas emissões, levando a um potencial perigo de bioacumulação dos poluentes na vegetação. Os PAHs mais detetados foram os de peso molecular elevado, o que indicia a sua origem em processos de combustão.

Em solos agrícolas, Zhang *et al.* (2013) verificaram uma concentração média de 275,04 ng.g⁻¹, enquanto Yang *et al.* (2012) de 129,5 ng.g⁻¹. Zhang *et al.* (2013) detetaram que o *phenanthrene* era o PAH mais presente nas amostras recolhidas assim como os PAHs com três e quatro anéis aromáticos, devido à queima de biomassa e combustíveis na região. Albero *et al.* (2012) detetaram concentrações abaixo de 0,2 a 454 ng.g⁻¹ e Barco-Bonilla *et al.* (2009) uma concentração entre 0,30 ng.g⁻¹ e 31 ng.g⁻¹ para solos agrícolas e entre 1 ng.g⁻¹ e 85 ng.g⁻¹ para solos industriais. Agarwal *et al.* (2009) observaram uma concentração média de 1910 ng.g⁻¹, em que os PAHs de baixo peso molecular foram predominantes. A combustão de biomassa e combustíveis fósseis foram os principais responsáveis por estes valores. Maliszewska-Kordybach *et al.* (2009) encontraram concentrações entre 0,010 ng.g⁻¹ e 1273 ng.g⁻¹, que foram justificadas com o facto da combustão de carvão ser, na altura do estudo (2005), a principal fonte de energia da Polónia.

Peng *et al.* (2012, 2011) analisaram as concentrações de PAHs em solos urbanos em Pequim e obtiveram níveis médios de 523 a 4768 ng.g⁻¹ e 1228 ng.g⁻¹, respetivamente. Estes valores são devidos à proximidade de pontos industriais, como instalações de combustão de carvão e à emissão do tráfego automóvel. Por seu lado, Liu *et al.* (2010) registaram uma concentração média de 1700 ng.g⁻¹ em amostras de solo recolhidas de locais fortemente poluídos por atividades antropogénicas (tráfego automóvel, indústria petrolífera e combustão de carvão), enquanto Ma e Zhou (2011) fizeram uma comparação entre duas cidades chinesas: Huizhou (123 ng.g⁻¹) e Zhanjiang (553 ng.g⁻¹). As duas cidades são afetadas pela combustão de carvão e combustíveis, no entanto, em Zhanjiang o petróleo é das principais fontes de poluição, daí a concentração de PAHs ser mais elevada nesta cidade.

Em solos industriais Korosi *et al.* (2013) detetaram um intervalo de concentrações entre 3,2 ng.g⁻¹ e 666,7 ng.g⁻¹ e Riccardi *et al.* (2013) entre 810 ng.g⁻¹ e 8500 ng.g⁻¹.

Uma das fontes naturais de introdução de PAHs no solo é através de incêndios florestais. Tendo em conta esse facto, Choi (2014) analisou as concentrações de PAHs em solos e recolheu amostras 1, 3, 5 e 7 meses após o incêndio e comparou com um solo que não tinha sofrido qualquer tipo de queima.

Este último apresentou concentrações médias de 25,6 ng.g⁻¹, após 1 mês de 133 ng.g⁻¹, após 3 meses de 98 ng.g⁻¹, após 5 meses de 57 ng.g⁻¹ e após 7 meses de 41,1 ng.g⁻¹.

De fato, o incêndio pode ter aumentado a concentração dos PAHs, mas não influenciou a sua concentração ao longo do tempo. Os compostos de dois a quatro anéis foram os mais detetados, dada a influência da queima de biomassa.

Em Portugal, Cachada *et al.* (2012a) analisaram a concentração de PAHs em solos urbanos em duas cidades (Lisboa e Viseu). Em Lisboa foram obtidas concentrações médias de 1544 ng.g⁻¹, e em Viseu de 169 ng.g⁻¹. Tais valores são compreensíveis, sendo Lisboa a capital de Portugal, com uma atividade industrial e tráfego automóvel muito maior que Viseu. O mesmo autor também avaliou a concentração de PAHs em solos agrícolas e urbanos em Estarreja (Aveiro) (Cachada *et al.*, 2012b), com valores entre 34 ng.g⁻¹ e 2016 ng.g⁻¹, e 27 ng.g⁻¹ e 526 ng.g⁻¹, respetivamente. As grandes diferenças encontradas nestes valores justificam-se pelo fato de as amostras de solos agrícolas estarem localizadas perto de um complexo industrial químico.

Albero *et al.* (2012), Barco-Bonilla *et al.* (2009), Peng *et al.* (2012, 2011) e Wei *et al.* (2014) obtiveram baixas recuperações para o *naphthalene*, talvez devido ao fato da volatilidade deste composto poder comprometer alguns passos da análise das amostras, nomeadamente os passos de redução de volume por evaporação. Da análise realizada, o *phenanthrene* é o PAH mais observado nas amostras e os PAHs com elevado peso molecular encontram-se mais próximos dos pontos de origem de poluição, pois são mais difíceis de serem transportados e biodegradados que os PAHs de dois anéis aromáticos.

Por fim, as maiores fontes de PAHs foram a atividade industrial e o tráfego automóvel e as concentrações de PAHs encontram-se por ordem decrescente em zonas industriais> urbanas> rurais.

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos.

País/ Data	Matriz	Analitos (n°)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
China 2010	Solo de uma zona húmida (0-9,74 m) 10 g solo	16	USE: Hex/Ac (1:1) 20 min (3x) SPE em coluna: SiO ₂ /Al ₂ O ₃ Eluição: 15 mL Hex +70 mL Hex/DCM (7:3)	GC-MS Coluna DB-5 (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	0,60-4,8	*	62-118	23,1-250,4 Média: 88,8	Zhang <i>et al.</i> (2014)
China 2011	Solo de uma zona húmida (0-5 cm) 20 g solo	16	Soxhlet: DCM+cobre 72 horas SPE em coluna: SiO ₂ /Al ₂ O ₃ (1:1) Eluição: Hex/DCM (1:1)	GC-MS Coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	*	63-99	106-3148 Média: 550	Ma <i>et al.</i> (2014)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (n°)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
China 2009- 2010	Solo agrícola, florestal, residencial, industrial, de um aterro e de uma fonte de água potável 20 g solo	15	Soxhlet: 170 mL Hex/DCM/Ac (2:2:1) 48 horas SPE em coluna: 12 cm SiO ₂ /6 cm Al ₂ O ₃ Eluição: 80 mL Hex/DCM (7:3)	GC-MS Coluna DB-5MS (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	*	68-104 (45% <i>naphthalene</i>)	Agrícola: 12-1370 Média: 148 Florestal: 5,13-325 Média: 82 Residencial: 39,9-7510 Média: 565 Industrial: 18,9-12000 Média: 733 Aterro: 39,8-4410 Média: 651 Fonte água potável: 12,6-157 Média: 49	Wei <i>et al.</i> (2014)
China 2011	Solo rural 10 g solo + Na ₂ SO ₄	16	USE: 30 mL Hex/DCM (1:1) 4 min (3x); Centrifugação SPE em coluna: 6 g SiO ₂ /2 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 25 mL Hex/DCM (3:2)	GC-MS Coluna BD-5 (30 cm x 0,318 mm, 0,25 µm)	0,010- 0,88 (ng.mL ⁻¹)	*	*	1,45-12,7 Média: 6,04	Yuan <i>et al.</i> (2014a)
China 2007	Solo rural (0-5 cm) 30 g solo	15	Soxhlet: 200 mL DCM 16 horas SPE em coluna: 9 g SiO ₂ /10 g Al ₂ O ₃ / 1 cm Na ₂ SO ₄ Eluição: 180 mL Hex/DCM (1:1); GPC	GC-MS/MS Coluna DB-5MS (60 m x 0,25 µm)	4,0-40	*	67-92	5,54-389 Média: 59,9	Wang <i>et al.</i> (2014)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (n°)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
China 2011	Solo industrial (0-20 cm) 5 g solo+Na ₂ SO ₄	16	USE: 30 mL Hex/DCM (1:1) 4 min (3x); Centrifugação SPE em coluna: 6 g SiO ₂ /2 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 25 mL Hex/DCM (3:2)	GC-MS Coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25)	0,030- 6,2	*	76- 106	126,68- 365926,17 Média: 24307,81	Yuan <i>et al.</i> (2014b)
Canadá *	Solo 10 g solo +5 g Na ₂ SO ₄	18	Extração com solvente: 15 mL DCM+ Vórtex+5 min centrifugação Decantação 5 mL DCM+5 min mistura +5 min centrifugação	GC-MS/MS Coluna Restek Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	5,0-10	20	58- 110	*	Shang <i>et al.</i> (2014)
Argentina 2010	Solo rural 15 g solo	29	ASE: 1° ciclo (DCM) 2° ciclo (DCM/Ac/CF ₃ COOH) (125:250:1) Na ₂ SO ₄ SPE em coluna: SiO ₂ Eluição: 9 mL Hex/DCM (5:1)	GC-MS Coluna HP-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25)	0,0020- 0,13	*	Média: 106	1,7-31 Média: 7,5	Wilcke <i>et al.</i> (2014)
Coreia do Sul 2010	Solo rural, urbano e industrial (0-5 cm) 10 g solo +5 g Na ₂ SO ₄	16	Soxhlet: 350 mL Hex/Ac (9:1) SPE em coluna: 5 g SiO ₂ / 2 g Al ₂ O ₃ /2 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 200 mL Hex/DCM (3:1)	GC-MS Coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	0,30-1,9	*	57- 106	Rural: 92-450 Média: 220 Urbano: 65-1200 Média: 390 Industrial: 120-12000 Média: 1900	Kwon e Choi (2014)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (n°)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
Coreia do Sul 2004	Solo florestal após incêndio (recolhido após 1, 3, 5 e 7 meses) (1-5 cm) 5 g solo	16	ASE: 60 mL Hex/Ac (1:1) 140 °C, 11,7 MPa 5 min ciclo (2x) SPE em coluna: 4 g SiO ₂ /2 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 25 mL Hex/DCM (1:1)	GC-MS Coluna TR-5MS SQC (30 m x 0,25 mm, 0,25)	*	*	60-116	Controlo: 6,27-52,2 Média: 25,6 1 Mês: 25,6-274 Média: 133 3 Meses: 72,1-124 Média: 98,0 5 Meses: 37,5-102 Média: 57,0 7 Meses: 17,9-59,6 Média: 41,1	Choi (2014)
Canadá *	Solo 0,1 g solo	10	SPME: 5 µL dietilamina 30-50 °C, 45 min	GC-FID Coluna SLB-5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	*	60-75	nd-128	Guo <i>et al.</i> (2013b)
Canadá 2011	Solo industrial * g solo + <i>hydromatrix</i> (1:1)	16	Soxhlet: método US EPA GPC: método US EPA SPE: SiO ₂ (método US EPA)	GC-MS Coluna DB-XLB (30 m x 0,18 µm, 180 µm)	*	*	*	3,2-666,7	Korosi <i>et al.</i> (2013)
Itália *	Solo industrial (0-10 m) 5 g solo + 5 g Na ₂ SO ₄	16	ASE: DCM (100%) 100 °C, 1500 psi; 5 min 30 g Na ₂ SO ₄ SPE em coluna: Al ₂ O ₃ Eluição: 15 mL DCM	GC-MS *	*	*	80-120	810-8500	Riccardi <i>et al.</i> (2013)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (n°)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
China 2009	Solo agrícola irrigado com águas residuais (0-100 cm) 10 g solo	16	PLE: DCM/Ac (1:1) 140 °C, 1500 psi; 5 min SPE em coluna Eluição: 30 mL Hex/DCM (1:2)	GC-MS Coluna HP-5MS (30 m, 0,25 mm 0,25)	13-16	*	50-105 Média: 81	7,88- 2231,42 Média: 275,04	Zhang <i>et al.</i> (2013)
China *	Solo de uma zona montanhosa (A) e perto de um rio (B) 1 g solo	6	USE: 30 mL DCM 30 min 10 min centrifugação	HPLC-FID CTO-10AS VP (250 mm x 4,6 mm, 5 mm)	0,0015- 0,40	*	70-116	(A) nd-4,48 (ng.L ⁻¹) (B) 41,19- 123,91	Pan <i>et al.</i> (2013)
Singapura *	Solo 1,0 g solo	16	MAE-SBME: 10 mL H ₂ O/10 µL Tol 60 °C, 20 min	GC-MS Coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	0,030- 0,25	0,10- 0,97	81-107	nd-128	Guo e Lee (2013)
Portugal *	Solo urbano (Lisboa e Viseu) (0-10 cm) 10 g solo	16	Soxhlet: 90 mL Hex/Ac (2:1) 8 horas SPE em cartuchos: 1 g SiO ₂ /2 g Al ₂ O ₃ / 0,5 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 20 mL Hex/DCM (9:1) +10 mL Hex/DCM (2:1)	GC-MS Coluna SPB-5	0,15- 0,63	*	78-99	Lisboa 6,3-22,670 Média: 1544 Viseu 6,0-790 Média: 169	Cachada <i>et al.</i> (2012a)
Portugal *	Solo agrícola e urbano (0-10 cm) 10 g solo	16	Soxhlet: Hex/Ac SPE: Al ₂ O ₃	GC-MS Coluna SPB-5	0,15- 0,74	*	65-100	Agrícola: 34-2,016 Urbano: 27-526	Cachada <i>et al.</i> (2012b)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (nº)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
China 2008	Solo agrícola (0-20 cm) 10 g solo	16	ASE: DCM/Ac (1:1) 140 °C, 1500 psi; 5 min (2x) SPE em coluna: SiO ₂	GC-FID Coluna HP-5 (30 m, 0,25 mm, 0,5 µm)	0,40- 4,8	*	68-124 Média: 96	15,7- 1247,6 Média: 129,5	Yang <i>et al.</i> (2012)
China *	Solo urbano (0-10 cm) 5 g solo + 5 g Na ₂ SO ₄	16	Soxhlet automático: 120 mL DCM/Ac (1:1) 2 horas SPE em coluna: SiO ₂	GC-MS *	*	*	86-119 (64% <i>naphthalene</i>)	Média: 523-4768	Peng <i>et al.</i> (2012)
Espanha *	Solo agrícola (0-30 cm) 1 g solo	16	PLE: EtOAc/MeOH (90:10) 80 °C, 1740 psi 2 ciclos, 10 min	GC-MS/MS Coluna ZB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	0,20- 2,3	0,70- 7,6	76-114 (44% <i>naphthalene</i>)	<LQ-454,0	Albero <i>et al.</i> (2012)
Argélia *	Solo rural, agrícola, urbano e industrial 10 g solo +4 <i>hydromatrix</i>	16	Soxhlet: 300 mL Tol SPE em coluna: 6 SiO ₂ / 3 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 25 mL Hex +25 mL Hex/DCM (12 mL:12,5 mL)	GC-MS *	*	*	*	Rural: 246,270 Agrícola: 385,622 Urbano: 741,602 Industrial: 10724,506	Mebarka <i>et al.</i> (2012)
Roménia 2009	Solo rural, urbano e industrial (5-20 cm) 1 g solo	16	MAE: 20 mL Hex/Ac (1:2) 140 W, 15 min (2x) SPE em coluna: 1 g SiO ₂ Eluição: 5 mL Hex +5 mL Hex/DCM (1:1)	GC-MS Coluna HP-5MS (30 m x 0,32 mm, 0,25 µm)	1,0-3,0	3,0-9,0	75-102	nd-25352 Média: 214	Ene <i>et al.</i> (2012a)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (nº)	Extração/ <i>Clean-up</i>	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
Roménia 2009	Solo rural, urbano e industrial (0-5 cm) 1 g solo	16	MAE: 20 mL Hex/Ac (1:2) SPE em coluna: 1 g SiO ₂ Eluição: 5 mL Hex +5 mL Hex/DCM (1:1)	GC-MS Coluna HP-5MS (30 m x 0,32 mm, 0,25 µm)	1,0-3,0	*	*	3-38524	Ene <i>et al.</i> (2012b)
China 2008	Solos urbanos (0-10 cm) 5 g solo + 5 g Na ₂ SO ₄	16	Soxhlet automático: 120 mL DCM/Ac 140 min SPE em coluna: SiO ₂ / 1 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 8 mL Hex/DCM (1:1)	GC-MS Coluna HP-5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	*	86-119 (64% <i>naphthalene</i>)	93-13141 Média: 1228	Peng <i>et al.</i> (2011)
China 2004- 2005	Solo urbano (Huizhou e Zhanjiang) (0-20 cm) * g solo	16	Soxhlet: 200 mL DCM+cobre; 48 horas SPE em coluna: SiO ₂ /Al ₂ O ₃ (2:1) Eluição: Hex/DCM (7:3)	GC-MS Coluna DB-5 (30 m x 250 µm, 0,25 µm)	*	*	*	Huizhou: 35,40- 534,5 Média: 123,09 Zhanjiang: 9,50- 6618,00 Média: 552,82	Ma e Zhou (2011)
Nepal 2007	Solo de uma área montanhosa protegida (5-15 cm) 30-50 g solo	17	Soxhlet: Hex/Ac (3:1) 25 ciclos SPE em coluna: 4 g SiO ₂ /Al ₂ O ₃ (2:1) Eluição: 10 mL Hex/DCM (70:30)	GC-MS Coluna VF-Xms (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	0,020	61-131	Média (Σ17 PAHs) 6,40	Guzzella <i>et al.</i> (2011)
China 2007	Solo urbano (5-10 cm) 5 g solo + Na ₂ SO ₄ (1:1)	18	Soxtec: 70 mL Hex/Ac (1:1) 120 min SPE em coluna: 5 g SiO ₂	HPLC-PDA *	1,0-19	*	87-113	62,4-31900 Média: 1700	Liu <i>et al.</i> (2010)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (nº)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
China 2007	Solo industrial 2,0 g solo	15	USE: 10 mL Ac +0,2 g cobre+5 g Na ₂ SO ₄ 15 min (2x);Centrifugação SPE em coluna: SiO ₂ Eluição: 8 mL Hex/DCM (1:1)	HPLC-FD Coluna C18 (4,6 x 150 mm)	*	*	61-100	397,0- 1934,8	Li <i>et al.</i> (2010)
Itália 2007	Solo rural, de um jardim botânico e urbano (0-3 cm) 3 g solo + 10 g Na ₂ SO ₄	23	Soxhlet: 250 mL Hex/Ac (1:1) 24 horas	GC-MS Coluna Equity- 5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	0,059- 3,9	70-102	Σ23 PAHs Rural: 101 Jardim: 947-18072 Urbano: 2157	Orecchio (2010b)
Itália 2006	Solo rural e de uma reserva natural (0-5 cm) 5 g solo + 15 g Na ₂ SO ₄	16	Soxhlet: 150 mL DCM 24 horas	GC-MS Coluna Equity- 5 (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	*	0,057- 3,1	75-106	Rural: <200 Média: 101 Reserva Natural: 35-545 Média: 141	Orecchio (2010a)
Uzbequistão *	Solo industrial (0-10 cm, 10-20 cm) 10 g solo	31	ASE: 1º ciclo (DCM) 2º ciclo (DCM/Ac/CF ₃ COOH)(125:250:1) SPE em coluna: SiO ₂ Eluição: 9 mL Hex/DCM (5:1)	GC-MS *	*	*	110	0-10 cm: 78-4230 10-20 cm: 70-3180	Musa Bandowe <i>et al.</i> (2010)
Índia 2006	Solo agrícola (0-5 cm) 10 g solo	16	USE: 50 mL Tol 15 min (2x) SPE em coluna:3 g SiO ₂ Eluição: 10 mL Hex +20 mL Hex/Tol	HPLC-UV Coluna C18 (4,6 mm x 250 mm, 5 µm)	*	*	79-95	830-3880 Média: 1910	Agarwal <i>et al.</i> (2009)

* Não indicado no artigo

Tabela 4 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de PAHs em solos (continuação).

País/ Data	Matriz	Analitos (nº)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹) Σ16 PAHs (US EPA)	Ref
Índia 2006	Solo rural e urbano (0-5 cm) 10 g solo	16	USE: 50 mL Tol 15 min (2x) Mistura e centrifugação SPE em coluna: 3 g SiO ₂ Eluição: 10 mL Hex +20 mL Hex/Tol	HPLC-UV Coluna C18 (4,6 mm x 250 mm, 5 µm)	*	*	79-95	Rural Média: 886 Urbano: 1062-9652 Média: 4694	Agarwal (2009)
China 2006	Solo urbano (0-10 cm) 10 g solo+10 g Na ₂ SO ₄	22	Soxhlet: 200 mL Hex/Ac (1:1); 24 horas SPE em coluna: 10 g SiO ₂ /2 cm Na ₂ SO ₄ Eluição: 25 mL Hex +35 mL Hex/DCM (3:2)	GC-MS Coluna DB-5 (30 m x 0,25, 0,25 µm)	0,070-0,48	*	81-119	347- 17,900 Média: 3290	Jiang <i>et al.</i> (2009)
Ártico 2007	Solo (0-5 cm) 5 g solo	16	USE: 40 mL Hex/Ac (1:1) 30 min (2x) SPE em coluna: 2 g SiO ₂ /4 g florisil/ 2 g Na ₂ SO ₄ Eluição: 30 mL Hex +50 mL Hex/DCM (7:3)	GC-MS Coluna DB-5 (0,25 mm x 30 m, 0,25 µm)	*	*	61-102	37-324 Média: 157	Wang <i>et al.</i> (2009)
Espanha *	Solo agrícola e industrial	21	PLE: 6 g solo+ <i>hydromatrix</i> Hex, 150 °C, 1500 psi; 1ciclo USE: 5 g solo 60 mL Hex 45 min; Centrifugação	GC-QqQ-MS/MS Coluna VF-5 ms (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	PLE: 0,020-0,75	PLE: 0,070- 2,5	PLE: 59-110 (<30% <i>naphthalene</i>) USE: 56-83 (<30% <i>naphthalene</i>)	PLE Agrícola: 0,30-3,31 Industrial: 1-85	Barco-Bonilla <i>et al.</i> (2009)
Polónia 2005	Solo agrícola 20 g solo	16	Soxtec: 125 mL DCM SPE coluna: 1 g SiO ₂ Eluição: 5 mL Hex/DCM	GC-MS Coluna DB-5 MS	0,010-0,047 (µg.mL ⁻¹)	0,50- 6,6	74-110	<LQ-1273 Média: 1-56	Maliszewska- Kordybach <i>et al.</i> (2009)

* Não indicado no artigo

2.2 Determinação de *musks* em solos

Dado que a literatura referente à determinação de *musks* em solos é escassa, apenas foi possível analisar quatro publicações a esse respeito. Tal facto reflete a importância que o presente trabalho poderá vir a ter para o estudo destes compostos em particular. Os trabalhos existentes centram-se na análise de *musks* em solos para fins agrícolas enriquecidos com lamas/águas residuais tratadas provenientes de ETARs. Sendo que este não é o único objeto de estudo na presente dissertação, uma análise a estas publicações é imperativa. Na *Tabela 5* estão sumarizados os artigos analisados sobre a determinação de *musks* em solos.

Com tão poucas referências, não foi fácil fazer comparações entre as metodologias aplicadas, não se podendo neste caso afirmar que esta ou outra técnica é a mais favorável. Ainda assim, apresentam-se em seguida os casos de estudo e as técnicas aplicadas.

Chen *et al.* (2014) compararam os níveis de *galaxolide* e *tonalide* em solos com e sem aplicação de composto para fins agrícolas. O resultado foi que sem aplicação de composto os níveis no solo destes compostos eram baixos, mas ao aplicar composto verificou-se um aumento da concentração destes compostos, principalmente de *tonalide* (2,4 a 9,7 ng.g⁻¹ contra os 0,7 a 3,5 ng.g⁻¹ para o *galaxolide*). Sempre que se reaplicou o composto esta concentração aumentou, comprovando a bioacumulação destes compostos. Além disso, comprava-se ainda que estes *musks* não se degradam no tratamento das águas nas ETARs, constituindo um perigo para a saúde pública e ambiental. Os autores obtiveram recuperações na ordem de 108 a 115%. Ao utilizarem a mesma técnica de extração (ASE), Wang *et al.* (2013) também obtiveram boas recuperações na extração de *galaxolide* e *tonalide* (70 a 132%). Estes autores fizeram a comparação entre a presença de *galaxolide* e *tonalide* em solos urbanos irrigados com água pública *versus* água residual tratada proveniente de uma ETAR. Tal como os autores anteriores, também neste estudo o solo irrigado com águas residuais tratadas revelou maiores níveis dos *musks* analisados (1,33 a 3,92 ng.g⁻¹ contra 0,233 a 0,659 ng.g⁻¹), comprovando uma vez mais a sua resistência após tratamento em ETARs.

Aguirre *et al.* (2014) desenvolveram um método sensível e “amigo do ambiente” baseado na técnica de extração com barra de agitação (SBSE) para quantificarem, para além do *galaxolide* e *tonalide*, os *musk ambrette* e *ketone*, *celestolide*, *phantolide*, *traseolide* e o *cashmeran*, num solo enriquecido com um composto proveniente de uma ETAR (numa proporção solo:composto de 95:5). Esta técnica de extração apresentou recuperações satisfatórias (entre 74% e 126%), e as concentrações encontradas apresentaram um máximo de 7,8 ng.g⁻¹. O *musk ambrette*, *tonalide*, *cashmeran*, *traseolide* e o *celestolide* foram encontrados no solo com uma concentração inferior ao limite de deteção (LD).

Por outro lado, o *musk ketone*, *galaxolide* e o *phantolide* foram detetados, tendo o *musk ketone* a maior concentração ($7,8 \text{ ng.g}^{-1}$), talvez devido à sua baixa biodegradabilidade (Schmeiser *et al.*, 2001) e o *phantolide* a menor concentração ($0,0652 \text{ ng.g}^{-1}$). Em relação ao *musk ketone*, a situação pode revelar-se mais preocupante, dado que a sua exposição ao ser humano pode aumentar a suscetibilidade de aparecimento de cancro (Schmeiser *et al.*, 2001).

Chase *et al.* (2012), para além de terem extraído os mesmos *musks* policíclicos que os autores anteriores, também extraíram os *musks xylene* e *ketone*, através de agitação e centrifugação, num solo irrigado com efluente de uma ETAR. No entanto, esta técnica não obteve recuperações tão satisfatórias como as técnicas anteriormente apresentadas (apenas é dada a indicação de recuperações acima de 50%).

Verificou-se que os *musks* mais detetados foram o *galaxolide* e o *tonalide*, com concentrações máximas de $5,69 \text{ ng.g}^{-1}$ e $6,24 \text{ ng.g}^{-1}$, respetivamente, enquanto os restantes *musks* obtiveram concentrações mais baixas (abaixo de 1 ng.g^{-1}).

Em termos de tratamento de *clean-up*, os autores dividem-se em relação ao seu uso ou não. Enquanto Chen *et al.* (2014) e Wang *et al.* (2013) utilizaram SiO_2 e Al_2O_3 para eliminação de possíveis interferentes nas amostras, além de Na_2SO_4 para retirar a humidade da amostra, Aguirre *et al.* (2014) e Chase *et al.* (2012) não utilizaram qualquer tipo de tratamento.

Pelo levantamento bibliográfico conclui-se que o *galaxolide* e o *tonalide* são os compostos mais estudados, os mais presentes nas amostras e em maiores concentrações, o que poderá ser justificado por serem os *musks* mais utilizados na produção de artigos de higiene. Tal fato é motivo de atenção, pois estes compostos apresentam características de potencial risco para a saúde, como por exemplo, de desregulação endócrina (Chase *et al.*, 2012).

Tabela 5 - Resumo de metodologias utilizadas para determinação de musks em solos.

País/ Data	Matriz	Analitos (n°)	Extração/ Clean-up	Método Analítico	LD (ng.g ⁻¹)	LQ (ng.g ⁻¹)	Rec (%)	C (ng.g ⁻¹)	Ref
China 2010-2011	Solo agrícola com e sem aplicação de composto (0-20 cm) 5 g solo	<i>Galaxolide</i> <i>Tonalide</i>	ASE: DCM/Ac (1:1) 140 °C 2 ciclos, 5 min 2 g SiO ₂ /2 g Al ₂ SO ₃ 5 g Na ₂ SO ₄	GC-EI-MS Coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	0,30	1,1 0,90	115 108	Sem aplicação: nd-0,6 0,4-0,9 Com aplicação: 0,7-3,5 2,4-9,7 Aplicação repetida: 6,3-29,0 24,4- 67,5	Chen <i>et al.</i> (2014)
Alemanha *	Solo com composto de uma ETAR (95:5) 0,5 g solo	6 musks policíclicos 2 nitromusks	SBSE: 9 mL H ₂ O/MeOH (80:20) Banho 40 °C 180 min agitação	TD-GC-MS Coluna HP5-MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm)	0,010- 1,1	*	74- 126	<LD-7,8	Aguirre <i>et al.</i> (2014)
China 2010	Solo urbano irrigado com águas residuais municipais e água pública (0-10 cm) 10 g solo + 10 g diatomite	<i>Galaxolide</i> <i>Tonalide</i>	ASE: Hex/DCM (1:1) 100 °C, 10,3 MPa 3 ciclos, 5 min Na ₂ SO ₄ SPE em coluna	GC-MS *	0,058 0,089	0,19 0,30	70- 116 75- 132	Água pública: 0,233-0,435 0,330-0,659 Águas residuais: 1,33-2,55 1,91-3,92	Wang <i>et al.</i> (2013)
EUA 2009-2010	Solo irrigado com efluente de uma ETAR * g solo	6 musks policíclicos 2 nitromusks	Extração com solvente: 120 mL Hex/Ac (1:1) 2 horas agitação 10 min centrifugação	GC-MS Coluna DB-5 (250 µm, 1 µm)	0,30	0,33	>50	nd-6,24	Chase <i>et al.</i> (2012)

* Não indicado no artigo

3 Descrição Técnica

3.1 Reagentes

O diclorometano e o n-hexano, utilizados como solventes na extração, foram fornecidos pela VWR BDH Prolabo (Leuven, Bélgica), enquanto o sulfato de sódio e a alumina empregues no *clean-up* foram adquiridos à Merck (Darmstadt, Alemanha). Na fase GPC do *clean-up* foram utilizados *Bio-Beads S-X3* da Bio-rad (Hercules, EUA).

Para a preparação dos padrões utilizou-se uma solução *mix* de PAHs facultada pela Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemanha) (com *naphthalene*, *acenaphthylene*, *acenaphthene*, *fluorene*, *phenanthrene*, *anthracene*, *fluoranthene*, *pyrene*, *benzo[a]anthracene*, *chrysene*, *benzo[b]fluoranthene*, *benzo[k]fluoranthene*, *benzo[a]pyrene*, *indeno[1,2,3-cd]pyrene*, *dibenzo[a,h]anthracene* e *benzo[ghi]perylene* a $2000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em diclorometano/benzeno, 1:1), bem como o padrão de *musk xylene* ($100 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em acetoneitrilo). O *musk ketone* e o *musk ambrette* (padrões sólidos) foram facultados pela mesma empresa, com um grau de pureza de 98% e 99%, respetivamente. A LGC Standards (Teddington, Reino Unido) forneceu os padrões *cashmeran*, *celestolide*, *traseolide*, *phantolide*, *tonalide* e *galaxolide*, assim como as soluções padrão ($10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ em ciclohexano) de *musk moskene* e *musk tibetene*. Também foram utilizados padrões deuterados (*naphtalene-d₈*, *acenaphthene-d₁₀*, *phenanthrene-d₁₀*, *anthracene-d₁₀*, *chrysene-d₁₂* e *perylene-d₁₂*) fornecidos pela Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Alemanha).

O hélio (pureza de 99,999%) e o azoto (pureza de 99,995%) foram fornecidos pela Air Liquide (Maia, Portugal).

3.2 Preparação de padrões

De seguida será exposta a técnica de preparação dos padrões utilizados na atividade experimental e a sua funcionalidade. De referir que esta etapa laboratorial foi realizada pelo grupo de investigação do LEPABE, do Departamento de Engenharia Química, da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP).

Devido à volatilidade e sensibilidade à luz de alguns compostos, os padrões foram protegidos da luz e armazenados a -22°C .

3.2.1 Padrão para ensaios de validação

O padrão para ensaios de validação por adição (denominado *spike*) contém todos os analitos analisados na matriz em estudo, PAHs e *musks*, bem como, uma mistura de PAHs deuterados.

As soluções *stock* individuais de cada padrão de *musk* puro (*cashmeran*, *celestolide*, *traseolide*, *phantolide*, *tonalide*, *galaxolide*), a $13,3 \text{ g.L}^{-1}$, foram preparadas em ciclohexano. Posteriormente foi preparada uma solução *stock* com 8 *musks* (*musks ketone*, *ambrette*, *cashmeran*, *celestolide*, *traseolide*, *phantolide*, *tonalide*, *galaxolide*), a 20 mg.L^{-1} . A solução *stock* final, preparada em hexano, a 5 mg.L^{-1} , foi obtida através da evaporação por uma corrente de azoto dos *musks xylene*, *moskene* e *tibetene*, seguida da adição da solução *stock* com 8 *musks* mencionada anteriormente.

Como mencionado anteriormente, os PAHs-alvo são previamente obtidos num *mix*, a $2000 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$.

Para a preparação do padrão para *spike* foram misturados determinados volumes de um *mix* de PAHs e *musks* e um *mix* de PAHs deuterados em hexano, de modo a obter uma concentração baixa de $50 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ e alta de $750 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ para PAHs e *musks* (*spike low* e *spike high*, respetivamente) e $500 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ para PAHs deuterados.

Os padrões de calibração foram preparados em hexano para uma gama de concentração entre $10 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ e $1000 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$.

3.2.2 Padrão interno

O padrão interno é constituído por uma mistura de PAHs deuterados (*naphtalene-d₈*, *acenaphthene-d₁₀*, *phenanthrene-d₁₀*, *anthracene-d₁₀*, *chrysene-d₁₂* e *perylene-d₁₂*). Este foi utilizado em todas as amostras, no intuito de proceder à sua posterior quantificação. O padrão interno foi preparado em hexano a uma concentração de $500 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$.

Uma vez que o padrão interno tem propriedades físicas e químicas semelhantes às dos analitos correspondentes, pode não só eficazmente compensar a perda de analito durante o processo de pré-tratamento, mas também compensar a variação do valor da resposta do analito, devido aos efeitos da matriz.

3.3 Equipamento

A extração foi realizada num banho de ultrassons da marca J.P. Selecta, (Barcelona, Espanha). Este possui uma potência nominal de 420 W, frequência de 50/60 Hz e uma voltagem de 1,8 A.

Os extratos foram evaporados para redução do seu volume em rotavapores BÜCHI R-114 e R-210 (Flawil, Suíça).

As evaporações sob corrente de azoto foram realizadas através do acessório de secagem OMEGA (Stamford, EUA).

A análise instrumental das amostras foi efetuada através de um sistema Varian 4000 GC/MS com uma coluna capilar de sílica fundida BR-5ms, cujas características serão detalhadamente descritas no subcapítulo de instrumentação.

Todas as pesagens foram concretizadas numa balança analítica Mettler AE200 (Columbus, EUA) e a micro-seringa utilizada (100 µL) é da Hamilton (Bonaduz, Suíça).

A peneira (1 mm) utilizada para a separação das partes mais grosseiras das amostras de solo é da Retsch (Haan, Alemanha), e a estufa usada para a secagem das amostras para a determinação do teor de humidade é da J. P. Selecta (Barcelona, Espanha).

3.4 Amostras

Para a realização deste trabalho experimental (nomeadamente para os ensaios de validação do método) foi utilizada uma amostra de solo recolhida na FEUP em fevereiro de 2014. Outras três amostras (*Figura 3*), recolhidas em zonas urbana (Porto - 41° 11 H; 8° 36 O), industrial (Estarreja - 40° 45 H; 8° 34 O) e rural (Midões - 40° 22 N; 7° 57 O), em março de 2014, foram utilizadas para testar a aplicação do método validado em amostras contaminadas naturalmente.

Após a recolha, as amostras foram transportadas num saco de plástico fechado e peneiradas com uma peneira de 1 mm, retirando-se quaisquer vestígios de raízes e pedras. Por fim a amostra foi colocada num recipiente, devidamente identificado, e congelada a -22°C, até posterior análise.

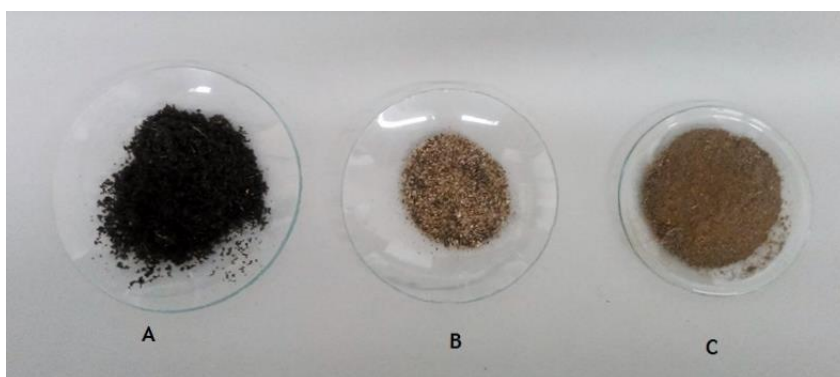


Figura 3 - Solo para análise: A - urbano, B - industrial, C - rural.

3.5 Método de extração

O método de extração utilizado nesta dissertação foi adaptado de um outro método desenvolvido pelo grupo de investigação do LEPABE, do Departamento de Engenharia Química, da FEUP (Ramos, 2013), relativamente a uma matriz diferente (agulhas de pinheiro).

3.5.1 Ensaios de validação

Para a validação da metodologia foram realizados ensaios com adição de padrão (*spike*) a dois níveis - *spike high* (PAHs e *musks* a $750 \mu\text{g.L}^{-1}$) e *spike low* (PAHs e *musks* a $50 \mu\text{g.L}^{-1}$), em triplicado, acompanhados de um branco em cada caso. Estes ensaios foram realizados para definir as recuperações e repetibilidade do método. Para a extração, procedeu-se ao descongelamento das amostras à temperatura ambiente (ao abrigo da luz) e posteriormente pesaram-se cerca de 5 g de solo por ensaio.

De seguida o solo foi colocado num cartucho de papel de filtro e transferido para um frasco Schott de 250 mL. Posteriormente adicionaram-se 100 mL de solvente de extração (mistura de Hex/DCM, proporção de volume de 1:1) e foi adicionado o padrão (100 μL de solução *mix* PAH e *musks*).

A extração foi realizada no banho de ultrassons durante 30 min. O extrato foi seguidamente arrefecido à temperatura ambiente e sempre ao abrigo da luz e transferido para um balão periforme de 100 mL, e o seu volume reduzido a aproximadamente 1 mL no rotavapor (banho a 35°C , sistema de refrigeração a 8°C , nível de rotação 2, pressão de vácuo entre -200 mbar e -800 mbar).

O extrato foi então passado por uma coluna de Na_2SO_4 , com o objetivo de remoção do conteúdo de água associada. A coluna foi preparada com lã de vidro (descontaminada a 400°C durante 1 hora), seguido da adição de aproximadamente 2 g de Na_2SO_4 . Posteriormente efetuou-se o condicionamento da amostra com 10 mL de Hex/DCM (1:1), que foram rejeitados. Aplicou-se então o extrato na coluna e procedeu-se à sua eluição com 10 mL do mesmo solvente. Nesta fase foi efetuada uma lavagem ao balão periforme, com o solvente de eluição (três vezes), para que o máximo de extrato fosse transferido para a coluna. Recolheu-se o eluato num balão periforme e reduziu-se o seu volume a aproximadamente 1 mL no rotavapor com as mesmas propriedades de operação referidas anteriormente.

O extrato foi transferido para um *vial* de *insert* cónico, o qual foi evaporado sob uma corrente suave de azoto, durante aproximadamente 15 min. A amostra foi reconstituída com 100 μL de um solvente de injeção (hexano e *anthracene-d*₁₀ a $1000 \mu\text{g.L}^{-1}$).

O objetivo do composto deuterado é garantir um controlo da eficácia de todo o processo cromatográfico. O *vial* foi fechado, selado com *parafilm*, agitado no vortex e conservado no congelador a -22 °C, até análise por GC-MS.

A metodologia utilizada encontra-se resumida no diagrama da *Figura 4*.

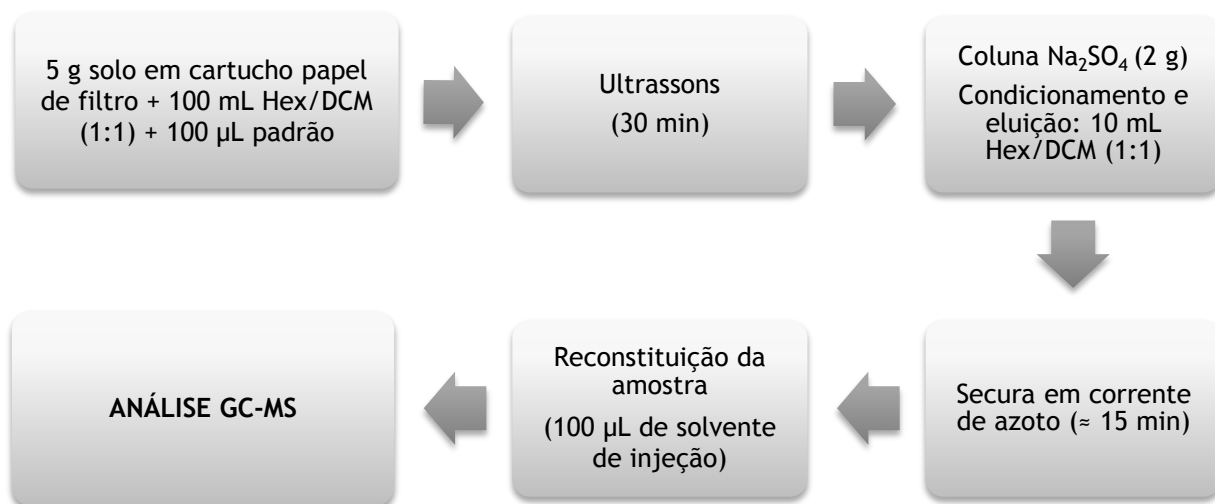


Figura 4 - Diagrama da metodologia utilizada.

3.5.2 Brancos

O ensaio de branco do método foi realizado de acordo com a metodologia descrita anteriormente. A única diferença substancial é que o padrão adicionado a este ensaio consistiu apenas num padrão interno com PAHs deuterados. O ensaio de branco laboratorial foi efetuado de forma análoga, mas sem a presença de matriz.

3.5.3 Determinação do teor de humidade

Para que fosse possível a apresentação dos resultados normalizados nas amostras de solo urbano, industrial e rural, e de forma a serem comparáveis com os publicados na literatura, foi determinado o teor de humidade presente em cada uma das amostras. Para tal, pesaram-se 4 g de cada solo (em duplicado) e em seguida secaram-se as amostras na estufa (a 80 °C), até peso constante.

3.6 Instrumentação

A análise instrumental das amostras foi realizada através de um sistema Varian 4000 GC/MS (Walnut Creek, EUA), equipado com um cromatógrafo 450-GC, um espectrômetro de massa com *ion trap* 240-MS, um auto injetor *split/splitless* CP-8410 e um sistema de aquisição de dados Varian MS workstation (versão 6.9.3).

O modo de ionização do espectrômetro de massa equipado com *ion trap* foi o de impacto de elétrons (EI, 70 eV), sendo a corrente de emissão do filamento de 50 μA .

A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna de sílica fundida BRUKER BR-5ms (30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 μm espessura de filme).

O programa de temperaturas utilizado no forno foi o seguinte: temperatura de arranque a 60 °C (manter 1 min), elevada a uma taxa de 6 °C.min⁻¹ até 175 °C (manter 4 min), de seguida elevada a uma taxa de 3 °C.min⁻¹ até aos 235 °C, sendo que posteriormente subiu novamente a uma taxa de 8 °C.min⁻¹ até aos 300 °C (manter durante 8 min). O tempo total de análise foi de 60,29 min.

A injeção do extrato (1 μL) foi efetuada em modo *splitless* (durante 5 min) e a temperatura do injetor foi mantida a 250°C. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a um fluxo constante de 1,0 mL.min⁻¹.

As temperaturas do *manifold*, *ion trap* e da linha de transferência foram mantidas a 50, 250 e 250 °C, respetivamente. A análise dos compostos em estudo foi efetuada em modo SIS (armazenamento de iões selecionados).

Os tempos de retenção, bem como os iões de identificação e quantificação de cada composto estão indicados na *Tabela 6*.

Tabela 6 - Tempos de retenção, iões de identificação e quantificação dos PAHs e musks.

Composto	Tempo de retenção (min)	Iões* (m/z)
<i>Naphthalene</i>	10,51	128
<i>Acenaphthylene</i>	16,38	152
<i>Acenaphthene</i>	17,07	152, 153
<i>Cashmeran</i>	17,33	163, 191
<i>Fluorene</i>	19,10	165, 166
<i>Celestolide</i>	21,56	173, 229
<i>Phantolide</i>	22,54	187, 229
<i>Phenanthrene</i>	23,52	178
<i>Anthracene</i>	23,84	178
<i>Musk ambrette</i>	24,58	253
<i>Traseolide</i>	25,19	173, 215
<i>Galaxolide</i>	25,28	213, 243
<i>Musk xylene</i>	25,37	282
<i>Tonalide</i>	25,56	159, 243
<i>Musk moskene</i>	26,16	263
<i>Musk tibetene</i>	27,56	251
<i>Musk ketone</i>	29,00	279
<i>Fluoranthene</i>	31,92	200, 202
<i>Pyrene</i>	32,68	200, 202
<i>Benzo[a]anthracene</i>	42,19	228, 229
<i>Chrysene</i>	43,33	228
<i>Benzo[b+k]fluoranthene</i>	48,52	252
<i>Benzo[a]pyrene</i>	49,63	252
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	53,00	276
<i>Dibenzo[a,h]anthracene</i>	53,19	278, 279
<i>Benzo[ghi]perylene</i>	54,04	276

* Os valores a negrito representam os iões de quantificação

3.7 Controlo de qualidade

Uma das classes dos compostos analisados, os *musks*, estão presentes na maioria de produtos de higiene e cosméticos, empregues no dia-a-dia, pelos utilizadores do laboratório. Deste modo surgiu a necessidade de estabelecer restrições relativamente à utilização de alguns destes produtos, nomeadamente perfumes e cremes, de modo a evitar possíveis contaminações externas das amostras.

Todo o material de vidro utilizado ao longo deste trabalho foi lavado com acetona e água destilada e seco em estufa a 50 °C. O material não calibrado para além da lavagem foi descontaminado a 400 °C, durante 1 hora.

O papel de filtro utilizado na etapa da extração da amostra por ultrassons foi pré-extraído por Soxhlet, com o mesmo solvente de extração, de modo a garantir que não existisse nenhum tipo de contaminação.

O sulfato de sódio e a alumina utilizados foram descontaminados uma vez por mês a 450 °C, durante 12 horas, de modo a ativar as suas propriedades de absorção e adsorção, respetivamente.

Os brancos laboratoriais foram efetuados com o objetivo de identificar qualquer tipo de contaminação externa às amostras. Caso esta exista, pode ser corrigida através da subtração dos valores de concentração do branco às concentrações obtidas nas amostras.

Os brancos de método foram realizados de modo a descontar os compostos naturalmente existentes na matriz em estudo, aos ensaios de adição de padrão, para que fosse possível a determinação correta das recuperações.

Outros parâmetros que servem para determinar o controlo de qualidade de uma metodologia analítica, como por exemplo a linearidade, limites de deteção ou recuperações foram calculados e serão detalhados na secção de discussão de resultados.

3.8 Acondicionamento, destino e tratamento de resíduos

Os resíduos líquidos gerados neste trabalho consistiram em soluções orgânicas contendo diclorometano, hexano e resíduos dos compostos em estudo. Por outro lado, os resíduos sólidos incluíram sulfato de sódio, alumina e amostras de solo em cartuchos de papel de filtro após extração, contaminados com os analitos em estudo. Todos estes resíduos foram recolhidos em recipientes fechados, devidamente rotulados, armazenados ao abrigo da luz e de fontes de ignição, para posterior tratamento pelo Sistema de Gestão Ambiental da FEUP (EcoFEUP).

4 Discussão dos Resultados

Tal como mencionado anteriormente, nesta dissertação foi utilizada uma metodologia de extração por ultrassons com análise por GC-MS para a determinação de PAHs e *musks* em amostras de solo. Esta metodologia foi previamente desenvolvida e otimizada no grupo de investigação onde decorreu o trabalho experimental desta dissertação - LEPABE (Ramos, 2013). A matriz em estudo difere da matriz estudada anteriormente (agulhas de pinheiro), logo foi necessário adaptar a metodologia a partir do procedimento original.

Os resultados obtidos serão apresentados e discutidos no presente capítulo.

4.1 Adaptação da metodologia de extração

A adaptação da metodologia anteriormente desenvolvida foi constituída por três fases. Na primeira, foi testada a aplicabilidade do procedimento original ao solo, assim como o acondicionamento da amostra: solo em cartucho ou solo solto. Como a metodologia original acima referida não foi aplicável para os compostos em estudo (PAHs e *musks*), foram efetuados testes de isolamento de procedimentos, para a deteção de possíveis erros na fase de extração e/ou no *clean-up*. Na segunda fase foi testada a extração com *clean-up* (SPE e GPC) e na terceira, extração sem recurso ao *clean-up*. Nesta última fase, o extrato em análise foi conduzido por uma coluna de sulfato de sódio com o objetivo de remoção da humidade.

Por fim, com a metodologia adaptada, procedeu-se à sua validação. Nas amostras de solo foram adicionados padrões em dois níveis de concentração diferentes: *spike low* (PAHs, *musks*) a $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ e *spike high* (PAHs, *musks*) a $750 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Após a adaptação e a validação da metodologia de extração, foram analisados três tipos de solo: urbano, industrial e rural. Devido às restrições de tempo, foram analisadas unicamente três amostras (uma para cada tipo de solo).

A otimização gradual da metodologia inicial permitiu a obtenção de um método analítico adaptado e validado para a matriz em estudo.

4.1.1 Metodologia original com solo em cartucho e solo solto

Inicialmente, a metodologia segundo Ramos (2013) foi fielmente reproduzida, e foi testada a eficácia do acondicionamento da amostra em solo solto e em cartuchos de papel de filtro. Os resultados obtidos para os compostos em estudo encontram-se na *Tabela 7*.

Tabela 7 - Recuperações e respectivos desvios padrões relativos (RSD) para PAHs e musks (solo em cartucho e solo solto).

Compostos	Solo em Cartucho		Solo Solto	
	Recuperação (%)	RSD (%)	Recuperação (%)	RSD (%)
<i>Naphthalene</i>	25	155	12	25
<i>Acenaphthylene</i>	112	13	142	9
<i>Acenaphthene</i>	114	16	133	6
<i>Fluorene</i>	1497	27	4927	51
<i>Phenanthrene</i>	277	71	444	65
<i>Anthracene</i>	133	22	114	26
<i>Fluoranthene</i>	400	63	419	25
<i>Pyrene</i>	378	63	414	28
<i>Benzo[a]anthracene</i>	253	86	0	--
<i>Chrysene</i>	504	74	546	15
<i>Benzo[b+k]fluoranthene</i>	303	65	132	46
<i>Benzo[a]pyrene</i>	100	85	98	23
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	509	45	371	35
<i>Dibenzo[a,h]anthracene</i>	80	67	26	185
<i>Benzo[ghi]perylene</i>	446	67	498	19
<i>Cashmeran</i>	122	13	41	132
<i>Celestolide</i>	0	36	1	85
<i>Galaxolide</i>	0	--	14	130
<i>Phantolide</i>	7	212	0	--
<i>Tonalide</i>	0	--	9	178
<i>Traseolide</i>	1	80	0	854
<i>Musk ambrette</i>	6	48	1	368
<i>Musk ketone</i>	1	76	0	71
<i>Musk moskene</i>	0	0	26	138
<i>Musk tibetene</i>	0	42	26	139
<i>Musk xylene</i>	7	72	31	108

-- não determinado

Na extração do solo em cartucho foram alcançadas recuperações entre 25% e 1497% para PAHs, e 0% e 122% para *musks*. Em solo solto, a recuperação obtida para os PAHs foi entre 0% e 4927%, enquanto para os *musks* foi entre 0% e 41%.

Conclui-se que se obtiveram recuperações e reprodutibilidades desfavoráveis, visto que os valores de desvio padrão relativo (% RSD) também não foram satisfatórios (ver *Tabela 7*). No caso dos *musks*, em grande parte dos compostos, as recuperações foram próximas de zero. Já no caso dos PAHs, devido aos elevados valores de recuperações obtidos (por vezes muito acima dos 100%), a existência de indícios de um efeito matriz foram considerados, que normalmente se traduz nesse incremento injustificado das percentagens de recuperação. Mediante os resultados obtidos, a extração do solo em cartucho ofereceu resultados mais favoráveis do que a extração em solo solto. Seguidamente foram realizados apenas ensaios com solo em cartuchos. No entanto, não foi possível obter recuperações aceitáveis para PAHs e *musks*, o que indicou que o método não era o mais adequado para a matriz em estudo.

De modo a perceber qual a fase que estaria a interferir no desempenho da metodologia (*clean-up* e/ou extração), foram realizados testes a esse respeito. Numa segunda fase utilizou-se um processo de extração seguida de *clean-up* e finalmente extração sem *clean-up* subsequente.

4.1.2 Ensaio teste para a fase de *clean-up*

De modo a testar a eficácia de *clean-up* do SPE e do GPC, foram analisadas amostras após o SPE e após SPE seguido de GPC para se verificar se apenas o SPE seria suficiente para o *clean-up* e se estariam a ocorrer perdas de analitos durante o GPC. Os resultados obtidos encontram-se na *Tabela 8*.

Relativamente aos PAHs, a amostra retirada após SPE apresentou recuperações entre 1% e 281% e a amostra retirada no final da metodologia apresentou recuperações entre 6% e 345%. Neste caso, a matriz influenciou significativamente a eluição e recuperação destes compostos (efeito matriz).

Já para os *musks*, a amostra retirada após SPE exibiu recuperações entre 0% e 152% e no final do procedimento entre 0% e 199%. Em ambas as etapas, as recuperações foram baixas (praticamente nulas) para *musks* ou demasiado altas para PAHs. Não foi por isso possível retirar qualquer conclusão no que diz respeito à influência do GPC no processo, uma vez que os resultados foram semelhantes.

Dado que os *musks* não foram eluídos, possivelmente por ficaram retidos na alumina (sorbente do SPE), optou-se por um solvente com maior polaridade para facilitar a sua eluição. No entanto, a eluição dos interferentes inerentes à matriz também poderia ser facilitada.

Mediante os resultados obtidos foi realizado um segundo teste na fase SPE do *clean-up* e utilizou-se um solvente com maior poder de arraste na eluição, o DCM.

Tabela 8 - Recuperações e respectivos desvios padrões (RSD) para PAHs e musks após SPE e SPE+GPC.

Compostos	SPE		SPE + GPC	
	Recuperação (%)	RSD (%)	Recuperação (%)	RSD (%)
<i>Naphthalene</i>	62	9	29	8
<i>Acenaphthylene</i>	112	5	94	1
<i>Acenaphthene</i>	114	6	121	2
<i>Fluorene</i>	147	2	178	1
<i>Phenanthrene</i>	75	55	12	82
<i>Anthracene</i>	94	7	25	14
<i>Fluoranthene</i>	273	41	32	77
<i>Pyrene</i>	281	34	34	64
<i>Benzo[a]anthracene</i>	148	35	192	5
<i>Chrysene</i>	175	28	208	0
<i>Benzo[b+k]fluoranthene</i>	33	272	128	49
<i>Benzo[a]pyrene</i>	168	23	345	4
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	1	1158	6	245
<i>Dibenzo[a,h]anthracene</i>	7	183	54	39
<i>Benzo[ghi]perylene</i>	197	8	411	0
<i>Cashmeran</i>	0	--	0	--
<i>Celestolide</i>	0	49	0	--
<i>Galaxolide</i>	0	--	0	--
<i>Phantolide</i>	1	88	0	--
<i>Tonalide</i>	0	--	0	--
<i>Traseolide</i>	1	24	0	--
<i>Musk ambrette</i>	60	3	0	--
<i>Musk ketone</i>	0	0	0	0
<i>Musk moskene</i>	62	56	66	56
<i>Musk tibetene</i>	77	56	70	52
<i>Musk xylene</i>	152	3	199	0

-- não determinado

4.1.2.1 Alteração do solvente de eluição no SPE

Ao efetuar o estudo de extração de PAHs e *musks* em agulhas de pinheiro, Ramos (2013) verificou que nos ensaios de perfis de eluição com colunas SPE (com alumina ativada) os *musks* ficavam retidos no adsorvente. Assim, neste ensaio, utilizou-se o método original, utilizando DCM como eluente para o SPE com alumina ativada.

Os resultados encontram-se apresentados na *Tabela 9*.

Tabela 9 - Recuperações para PAHs e musks com DCM.

PAHs	Recuperação (%)	Musks	Recuperação (%)
<i>Naphthalene</i>	0	<i>Cashmeran</i>	15
<i>Acenaphthylene</i>	127	<i>Celestolide</i>	0
<i>Acenaphthene</i>	117	<i>Galaxolide</i>	0
<i>Fluorene</i>	219	<i>Phantolide</i>	1
<i>Phenanthrene</i>	97	<i>Tonalide</i>	1
<i>Anthracene</i>	121	<i>Traseolide</i>	0
<i>Fluoranthene</i>	169	<i>Musk ambrette</i>	46
<i>Pyrene</i>	160	<i>Musk ketone</i>	0
<i>Benzo[a]anthracene</i>	329	<i>Musk moskene</i>	13
<i>Chrysene</i>	117	<i>Musk tibetene</i>	15
<i>Benzo[b+k]fluoranthene</i>	54	<i>Musk xylene</i>	14
<i>Benzo[a]pyrene</i>	78		
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	23880		
<i>Dibenzo[a,h]anthracene</i>	1868		
<i>Benzo[ghi]perylene</i>	5771		

Valores de RSD (%) não são apresentados pois não foram efetuados duplicados das amostras

Uma vez mais, os resultados de recuperações não foram satisfatórios, sendo na maioria dos casos bastante superiores a 100% (de 0 a 23880% no total) para os PAHs, reforçando a possibilidade de um importante efeito matriz.

Para os *musks* foram obtidas recuperações baixas (entre 0% e 46%), uma indicação de que os compostos não foram eluídos convenientemente.

Em consequência, foi decidido realizar ensaios de extração com a ausência de *clean-up*. Após extração fez-se passar o extrato apenas por uma coluna de sulfato de sódio, para a remoção da humidade (uma vez que é incompatível com a quantificação em GC-MS). Ao passar pela coluna, esta acaba também por ter um efeito filtrante, em que pequenas partículas de resíduos (poeiras) ficaram retidas, ficando o extrato o mais limpo possível para a análise cromatográfica.

4.1.3 Ensaio teste para extração sem *clean-up*

De modo a verificar a eficiência da extração foram realizados dois ensaios com adição de padrão: num o padrão foi adicionado antes da extração e noutro após a extração. Os resultados obtidos encontram-se na *Tabela 10*.

Tabela 10 - Recuperações para PAHs e musks (adição de padrão pré e pós extração).

Compostos	Pré	Pós
	Recuperação (%)	
<i>Naphthalene</i>	45	62
<i>Acenaphthylene</i>	85	84
<i>Acenaphthene</i>	102	94
<i>Fluorene</i>	113	107
<i>Phenanthrene</i>	144	126
<i>Anthracene</i>	112	107
<i>Fluoranthene</i>	126	156
<i>Pyrene</i>	126	163
<i>Benzo[a]anthracene</i>	194	182
<i>Chrysene</i>	107	110
<i>Benzo[b+k]fluoranthene</i>	1	92
<i>Benzo[a]pyrene</i>	0	35
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	1182	1344
<i>Dibenzo[a,h]anthracene</i>	149	179
<i>Benzo[ghi]perylene</i>	188	352
<i>Cashmeran</i>	0	0
<i>Celestolide</i>	101	99
<i>Galaxolide</i>	122	149
<i>Phantolide</i>	100	102
<i>Tonalide</i>	101	102
<i>Traseolide</i>	110	105
<i>Musk ambrette</i>	147	105
<i>Musk ketone</i>	97	86
<i>Musk moskene</i>	100	77
<i>Musk tibetene</i>	105	98
<i>Musk xylene</i>	16	11

Valores de RSD (%) não são apresentados pois não foram efetuados duplicados das amostras

Pela observação da *Tabela 10* continua a verificar-se o efeito matriz para os PAHs, dado que as recuperações encontram-se entre 0% e 1182% na adição de padrão pré extração e entre 62% e 1344% pós extração. Por outro lado, os *musks* apresentaram resultados satisfatórios de recuperação entre 0% e 147% na adição de padrão pré extração e entre 0% e 105% pós extração.

Os resultados obtidos pré e pós extração foram muito semelhantes, pelo que se considerou que a extração não foi responsável pela inadequabilidade do método. Deste modo, os únicos passos que poderiam influenciar significativamente as recuperações seriam os de *clean-up*: SPE com alumina e/ou GPC.

Como o GPC é um método de *clean-up* baseado na separação física por tamanho molecular, julgou-se que este passo não influenciaria negativamente as recuperações. Pelo contrário, poderia melhorá-las. Sendo assim, foi realizado um novo ensaio, em que após extração em ultrassons e evaporação do solvente, foi realizada uma secagem do extrato (por colunas de sulfato de sódio), seguida de um *clean-up* por GPC.

4.1.3.1 Verificação da *performance* do GPC

De modo a excluir o SPE como possível motivo para as baixas recuperações (pelo facto de poder reter os analitos), optou-se por realizar apenas um *clean-up* através de colunas GPC. Os resultados encontram-se na *Tabela 11*.

Tabela 11 - Recuperações para PAHs e musks (para colunas GPC).

PAHs	Recuperação (%)	RSD (%)	Musks	Recuperação (%)	RSD (%)
<i>Naphthalene</i>	38	61	<i>Cashmeran</i>	30	10
<i>Acenaphthylene</i>	98	35	<i>Celestolide</i>	91	4
<i>Acenaphthene</i>	95	7	<i>Galaxolide</i>	38	8
<i>Fluorene</i>	113	18	<i>Phantolide</i>	91	4
<i>Phenanthrene</i>	70	49	<i>Tonalide</i>	38	6
<i>Anthracene</i>	88	16	<i>Traseolide</i>	96	3
<i>Fluoranthene</i>	97	185	<i>Musk ambrette</i>	86	11
<i>Pyrene</i>	146	117	<i>Musk ketone</i>	73	9
<i>Benzo[a]anthracene</i>	323	48	<i>Musk moskene</i>	72	17
<i>Chrysene</i>	222	67	<i>Musk tibetene</i>	66	17
<i>Benzo[b+k]fluoranthene</i>	0	--	<i>Musk xylene</i>	34	1
<i>Benzo[a]pyrene</i>	0	--			
<i>Indeno[1,2,3-cd]pyrene</i>	0	--			
<i>Dibenzo[a,h]anthracene</i>	2978	20			
<i>Benzo[ghi]perylene</i>	0	--			

-- não determinado

Contrariamente ao esperado, as recuperações não melhoraram, à exceção dos *musks* *cashmeran* e *xylene*. Para os PAHs foram de 0 a 2978%, e para os *musks* entre 30% e 96%. Não foi encontrada uma explicação plausível para este comportamento devido à limitação de tempo de estudo.

Concluiu-se portanto que o GPC não melhorou, nem a recuperação, nem a reprodutibilidade do método.

Por outro lado, a extração do solo em cartuchos de papel de filtro e a secagem do extrato com sulfato de sódio permitiu obter recuperações e reprodutibilidades satisfatórias relativamente aos *musks*. Uma vez que esta classe de compostos era prioritária no âmbito deste estudo, devido à inexistência de literatura sobre esta problemática (com exceção dos exemplos mencionados no capítulo 2), procedeu-se à finalização da adaptação do método, seguida da validação deste (unicamente para os *musks*).

4.2 Validação da metodologia analítica para *musks*

Neste subcapítulo procedeu-se à validação da metodologia, que estabelece parâmetros analíticos, como a seletividade, linearidade, limite de quantificação, sensibilidade e precisão.

Para cada *musk* em estudo, foi construída uma curva de calibração (Anexo I) através da leitura obtida das soluções padrão de várias concentrações (10, 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 e 1500 $\mu\text{g.L}^{-1}$) no GC-MS. Os coeficientes de correlação (R^2) determinados variaram entre 0,9978 e 0,9996, o que nos forneceu indicação de um bom comportamento linear das curvas de calibração. Os limites de deteção e de quantificação (LQ) foram calculados com base na razão sinal-ruído de três ($S/N=3$) e dez ($S/N=10$), respetivamente. Os valores do LD variaram entre 0,002 ng.g^{-1} para o *phantolide* e 0,05 ng.g^{-1} para o *musk moskene*, enquanto os LQs variaram entre 0,005 ng.g^{-1} para o *phantolide* e 0,2 ng.g^{-1} para o *musk moskene*. Estes valores foram, de um modo geral, numericamente inferiores aos obtidos por autores como Chen *et al.* (2014), Wang *et al.* (2013) e Chase *et al.* (2012), no entanto, demonstraram que o método foi sensível uma vez que conseguiu detetar *musks* a baixas concentrações.

Para a determinação da seletividade recorreu-se a ensaios de recuperação do analito que consistiram na adição de padrões de diferentes concentrações (*spike low* - 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e *spike high* - 750 $\mu\text{g.L}^{-1}$). A extração foi realizada em conformidade com o procedimento anteriormente validado. Foram obtidas boas recuperações (de 52% para o *cashmeran* a 134% para o *musk tibetene*), com uma média de recuperação total de 99%. O método apresentou igualmente uma boa precisão, com um desvio padrão relativo médio inferior a 15%.

Na *Tabela 12* apresentam-se descritos os parâmetros de validação para a metodologia em estudo.

Tabela 12 - Parâmetros de validação para a metodologia.

Compostos	Linearidade ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	LD (ng.g^{-1})	LQ (ng.g^{-1})	R^2	Recuperação média \pm RSD (%)	
					50 $\mu\text{g.L}^{-1}$	750 $\mu\text{g.L}^{-1}$
<i>Cashmeran</i>	10-1500	0,03	0,1	0,9995	104 \pm 4	52 \pm 11
<i>Celestolide</i>	10-1500	0,002	0,006	0,9985	93 \pm 3	92 \pm 0
<i>Galaxolide</i>	10-1500	0,005	0,02	0,9995	111 \pm 2	95 \pm 6
<i>Phantolide</i>	10-1500	0,002	0,005	0,9994	99 \pm 3	96 \pm 1
<i>Tonalide</i>	10-1500	0,007	0,02	0,9991	72 \pm 3	92 \pm 5
<i>Traseolide</i>	10-1500	0,009	0,03	0,9978	111 \pm 4	93 \pm 2
<i>Musk ambrette</i>	10-1500	0,002	0,007	0,9978	74 \pm 1	114 \pm 10
<i>Musk ketone</i>	10-1500	0,02	0,08	0,9987	125 \pm 6	74 \pm 11
<i>Musk moskene</i>	10-1500	0,05	0,2	0,9982	127 \pm 7	85 \pm 15
<i>Musk tibetene</i>	10-1500	0,02	0,07	0,9996	134 \pm 7	80 \pm 10
<i>Musk xylene</i>	10-1500	0,02	0,07	0,9986	131 \pm 9	116 \pm 17
Média					99 \pm 6	

A identificação e quantificação dos compostos-alvo foram baseadas no tempo de retenção e nos tempos de identificação apresentados na *Tabela 6*. A detecção foi realizada utilizando o modo de armazenamento de íons selecionados (SIS) contido no *software* cromatográfico e os compostos foram separados com base na massa dos íons. Nas *Figuras 5 e 6* estão apresentados os cromatogramas obtidos para os *musks* numa amostra de solo com adição de padrão (750 $\mu\text{g.L}^{-1}$) e de solo urbano, respetivamente.

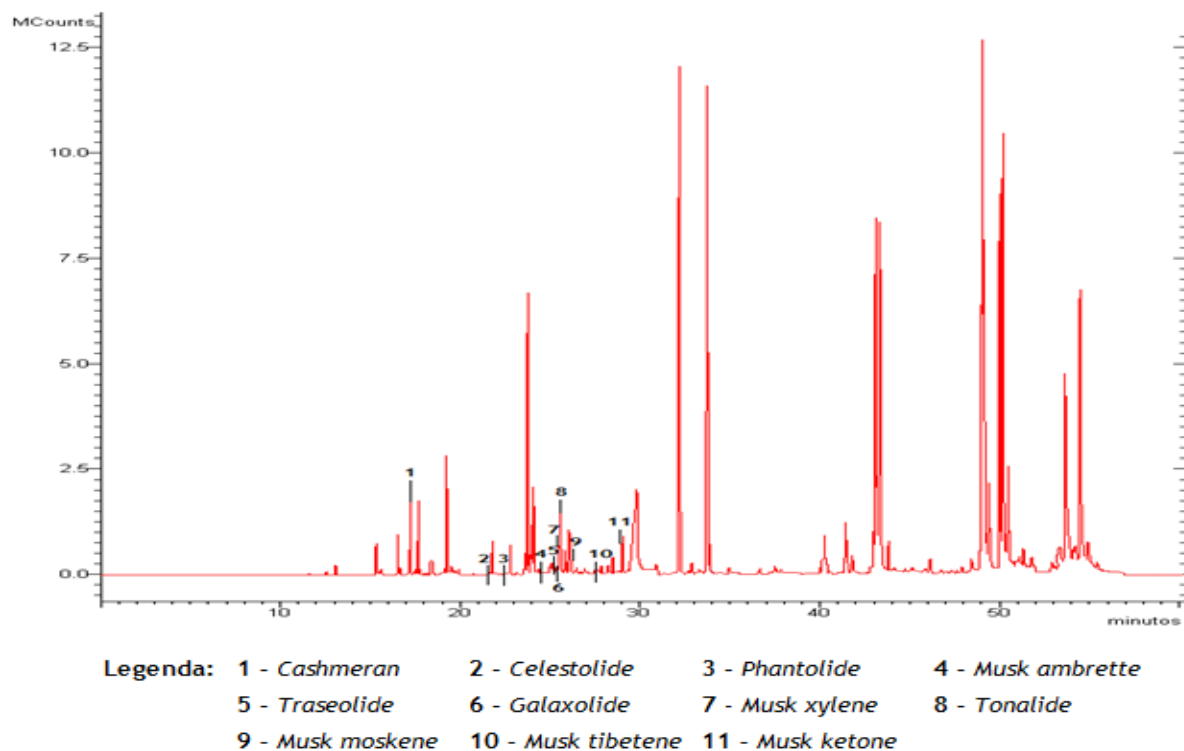


Figura 5 - Cromatograma de uma amostra de solo com adição de padrão ($750 \mu\text{g.L}^{-1}$).

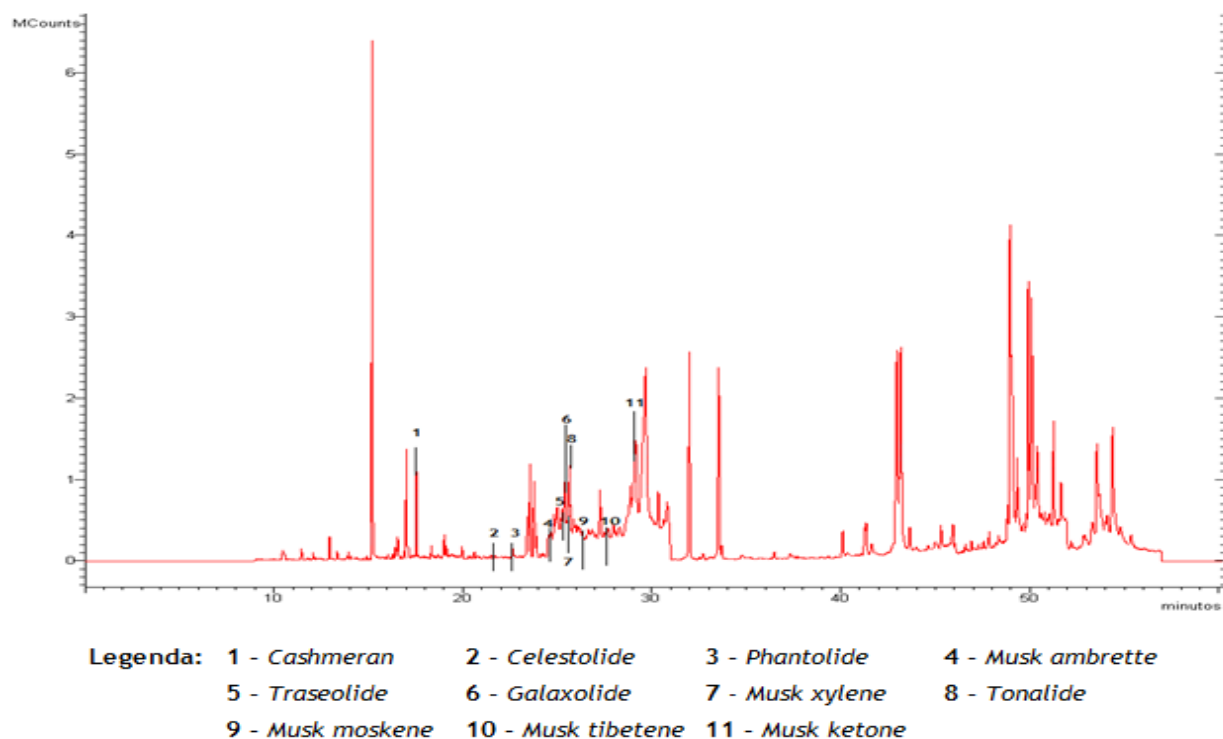


Figura 6 - Cromatograma de uma amostra de solo urbano.

4.3 Determinação de *musks* em solos naturalmente contaminados

O método adaptado foi utilizado para a determinação de *musks* em três tipos de solo diferentes: urbano, industrial e rural. Dado à existência de apenas três amostras de solo não foi possível tirar conclusões sólidas sobre o conteúdo de *musks*.

Na *Tabela 13* são apresentadas as concentrações (ng.g^{-1}), em base seca, obtidas para os *musks*, para cada tipo de amostra analisada. O teor de humidade de cada uma das amostras foi calculado, obtendo-se valores de 33% para o solo urbano, 1% para o solo industrial e 3% para o solo rural.

Para o solo urbano, as concentrações encontradas variaram entre $0,0372 \text{ ng.g}^{-1}$ (*celestolide*) e $68,6 \text{ ng.g}^{-1}$ (*cashmeran*), já para o solo industrial variaram entre $0,227 \text{ ng.g}^{-1}$ (*celestolide*) e $19,5 \text{ ng.g}^{-1}$ (*cashmeran*). Por fim, para o solo rural as concentrações encontraram-se entre $0,0444 \text{ ng.g}^{-1}$ (*celestolide*) e $6,74 \text{ ng.g}^{-1}$ (*galaxolide*). No geral, os valores variaram aproximadamente entre $0,04 \text{ ng.g}^{-1}$ para o *celestolide* nas amostras de solo urbano e rural e $68,6 \text{ ng.g}^{-1}$ para o *cashmeran* no solo urbano. O *cashmeran* e o *galaxolide* foram os *musks* encontrados em concentrações mais elevadas nas amostras. Os *musks ambrette*, *moskene* e *tibetene* (*musks* de utilização proibida na União Europeia) não foram detetados em qualquer uma das amostras. Os nitromusks de utilização restrita, *musk ketone* e *musk xylene*, não foram igualmente detetados. Os resultados obtidos sugerem diferentes proporções no uso de *musks* policíclicos versus nitromusks.

Tabela 13 - Níveis de concentração (ng.g^{-1}), em base seca, detetados em cada tipo de solo analisado.

Compostos	Tipo de solo		
	Urbano (ng.g^{-1})	Industrial (ng.g^{-1})	Rural (ng.g^{-1})
<i>Cashmeran</i>	68,6	19,5	0,101
<i>Celestolide</i>	0,0372	0,227	0,0444
<i>Galaxolide</i>	5,12	0,293	6,74
<i>Phantolide</i>	nd	nd	nd
<i>Tonalide</i>	nd	nd	nd
<i>Traseolide</i>	nd	nd	nd
<i>Musk ambrette</i>	nd	nd	nd
<i>Musk ketone</i>	nd	nd	nd
<i>Musk moskene</i>	nd	nd	nd
<i>Musk tibetene</i>	nd	nd	nd
<i>Musk xylene</i>	nd	nd	nd

nd - não detetado

Na literatura encontram-se essencialmente estudos da análise de *musks* em solos, maioritariamente enriquecidos para fins agrícolas.

Deste modo, uma comparação entre esses estudos e os resultados obtidos na corrente dissertação não foi viável, pois a origem das amostras é diferente. No entanto, os *musks* são compostos que são incorporados em produtos de uso diário, como por exemplo, perfumes, cremes e detergentes. Estes compostos são continuamente introduzidos no ambiente através da deposição atmosférica e incorporados nas águas residuais e nas lamas tratadas provenientes das ETARs. Tal proporciona-se, uma vez que estes compostos dificilmente se degradam ao longo do processo de tratamento nas ETARs, devido às suas propriedades de bioacumulação e lipofilicidade.

No LEPABE já foram realizados alguns estudos acerca da temática, mas em matrizes diferentes. Homem *et al.* (2013) encontraram concentrações em produtos de higiene que variaram entre 2 ng.g⁻¹ (pasta de dentes) e 882,34 ng.g⁻¹ (loções corporais perfumadas), onde os *musks* mais detetados foram o *galaxolide* (83%) e o *cashmeran* (75%). Roosens *et al.* (2007) também analisaram níveis de concentração de *musks* em loções para o corpo, perfumes, desodorizantes, produtos para o cabelo e para o banho. As concentrações máximas de *galaxolide*, *tonalide*, *musk xylene* e *musk moskene* foram de 22 mg.g⁻¹, 8 mg.g⁻¹, 26 µg.g⁻¹ e 0,5 µg.g⁻¹, respetivamente. O *tonalide* esteve presente em 70% das amostras e o *galaxolide* em 55%, enquanto os *musks xylene* e *moskene* foram detetados apenas em 10% e 9% das amostras, respetivamente.

Llompart *et al.* (2003) determinaram a concentração de *musks* em lamas de ETAR tratadas. A análise revelou a presença principalmente de *galaxolide* e *tonalide*, em concentrações que variaram entre 0,27 ng.g⁻¹ e 162 ng.g⁻¹. Outros estudos (Liu *et al.*, 2014) apresentaram concentrações totais de *musks* que variaram entre 47,3 ng.g⁻¹ e 68,2 mg.g⁻¹. O *galaxolide* (63,8%) e *tonalide* (31,7%) foram os *musks* predominantes nas amostras, perfazendo um total de 95,5% dos *musks* detetados.

Peck e Hornbuckle (2006) analisaram amostras de ar em diferentes locais: urbano, suburbano e rural. Em todos os locais foram detetados os *musks galaxolide* e *tonalide*. As concentrações urbanas de *galaxolide* e *tonalide* foram na ordem de 1 ng.m⁻³ e 5 ng.m⁻³ e nos subúrbios de 0,13 ng.m⁻³ e 0,10 ng.m⁻³, respetivamente. Em ambiente rural as concentrações médias de *galaxolide* e *tonalide* foram de 0,036 ng.m⁻³ e 0,032 ng.m⁻³, respetivamente.

Devido à pressão de vapor elevada, os *musks* podem volatilizar da água contaminada para a atmosfera, e a partir daí, migrar para outros sistemas ambientais, como por exemplo, por transporte atmosférico seguido de deposição. No entanto, a sua presença no ar também pode ser devida à volatilização direta no uso e fabrico de produtos de higiene pessoal (Peck e Hornbuckle, 2006).

A presença de *musks* em todas estas matrizes mostra que o ciclo de volatilização desempenha um papel importante no seu transporte até ao solo e na sua persistência nestas matrizes ambientais.

5 Conclusões

Nesta dissertação foi adaptada uma metodologia de extração por ultrassons e análise por GC-MS para a quantificação de 16 PAHs, considerados pela US EPA como poluentes prioritários, e 11 *musks* (6 *musks* policíclicos e 5 *nitromusks*) presentes em solos. Embora o objetivo inicial fosse a deteção destas duas classes de compostos, devido à restrição de tempo, apenas foi possível adaptar e validar a metodologia para os *musks*. No entanto, ao longo do trabalho experimental foram obtidos resultados que irão fornecer informação importante e melhorar algumas técnicas analíticas dentro do projeto do grupo de investigação LEPABE.

A validação da metodologia apresentou uma alta precisão (% RSD inferior a 15) e uma recuperação média dos compostos de 99%, permitindo a deteção de *musks* em concentrações entre 0,002 ng.g⁻¹ (*phantolide*) e 0,05 ng.g⁻¹ (*musk moskene*). O método foi aplicado a três tipos de amostras de solo naturalmente contaminado diferentes (urbano, industrial e rural) e apenas os *musks cashmeran*, *celestolide* e *galaxolide* foram detetados, em concentrações entre 0,0372 ng.g⁻¹ e 68,6 ng.g⁻¹. Os *nitromusks* (*musk ambrette*, *musk moskene* e *musk tibetene*) proibidos segundo a legislação europeia não foram detetados em nenhuma das amostras analisadas, assim como os *musks ketone* e *xylene*.

No âmbito desta tese, alguns dos resultados obtidos foram apresentados sob a forma de um *poster* num simpósio internacional, o 16º Simpósio Internacional ExTech sobre avanços em tecnologias de extração, que teve lugar nos dias 25, 26, 27 e 28 de maio de 2014, em Chania (Grécia) (Anexo II)

6 Limitações e Trabalho Futuro

Ao longo do trabalho experimental consideraram-se outras abordagens para este estudo. No entanto, devido a restrições de tempo, não foi possível ir além do exposto anteriormente. Seguidamente são apresentados possíveis estudos para trabalhos futuros, de acordo com esta temática:

- Realização de mais ensaios para testar a aplicabilidade da metodologia de extração à classe dos PAHs.
- Realização de ensaios testes na fase SPE do *clean-up*, nomeadamente testes de ativação de alumina e/ou alteração de sorbente utilizado.
- Realização de ensaios de extração por Soxhlet, de forma a comparar a *performance* desta técnica com a ultrassons testada na presente dissertação.
- Determinação do teor de matéria orgânica de amostras de solo de forma a relacioná-la com a concentração de poluentes.
- Alargar o estudo a outras amostras naturalmente contaminadas.
- Análise de PAHs e *musks* noutras matrizes, nomeadamente em alimentos. Uma análise entre solo e alimento seria interessante, de forma a observar a relação de concentração de contaminantes entre a fonte (solo) e o recetor (alimento) e tirar conclusões preliminares sobre a sua biomagnificação.

Referências

- Abramsson-Zetterberg L, Slanina P. Macrocyclic musk compounds—an absence of genotoxicity in the Ames test and the in vivo Micronucleus assay. *Toxicology Letters* 2002; 135: 155-163.
- Agarwal T. Concentration level, pattern and toxic potential of PAHs in traffic soil of Delhi, India. *Journal of Hazardous Materials* 2009; 171: 894-900.
- Agarwal T, Khillare PS, Shridhar V, Ray S. Pattern, sources and toxic potential of PAHs in the agricultural soils of Delhi, India. *Journal of Hazardous Materials* 2009; 163: 1033-1039.
- Aguirre J, Bizkarguenaga E, Iparraguirre A, Fernández LÁ, Zuloaga O, Prieto A. Development of stir-bar sorptive extraction-thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of musks in vegetables and amended soils. *Analytica Chimica Acta* 2014; 812: 74-82.
- Albero B, Sánchez-Brunete C, Miguel E, Pérez RA, Tadeo JL. Determination of selected organic contaminants in soil by pressurized liquid extraction and gas chromatography tandem mass spectrometry with in situ derivatization. *Journal of Chromatography A* 2012; 1248: 9-17.
- Ayuk-Takem L, Amisshah F, Aguilar BJ, Lamango NS. Inhibition of Polyisoprenylated Methylated Protein Methyl Esterase by Synthetic Musks Induces Cell Degeneration. *Environmental Toxicology* 2012; 29: 466-477.
- Babić S, Petrović M, Kaštelan-Macan M. Ultrasonic solvent extraction of pesticides from soil. *Journal of Chromatography A* 1998; 823: 3-9.
- Barco-Bonilla N, Vidal JLM, Garrido Frenich A, Romero-González R. Comparison of ultrasonic and pressurized liquid extraction for the analysis of polycyclic aromatic compounds in soil samples by gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta* 2009; 78: 156-164.
- Bhandari A, Xia K. Hazardous Organic Chemicals in Biosolids Recycled as Soil Amendments. *Environmental Chemical* 2005; 1: 217-239.
- Bispo A, Jourdain MJ, Jauzein M. Toxicity and genotoxicity of industrial soils polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Organic Geochemistry* 1999; 30: 947-952.
- Brevik EC. Soils and Human Health: An Overview. *Soils and Human Health*. CRC Press, 2012, pp. 29-56.
- Buchberger WW. Current approaches to trace analysis of pharmaceuticals and personal care products in the environment. *Journal of Chromatography A* 2011; 1218: 603-618.
- Burgess LC. Organic Pollutants in Soil. *Soils and Human Health*. CRC Press, 2012, pp. 83-106.
- Cachada A, Pato P, Rocha-Santos T, da Silva EF, Duarte AC. Levels, sources and potential human health risks of organic pollutants in urban soils. *Science of The Total Environment* 2012a; 430: 184-192.
- Cachada A, Pereira ME, Ferreira da Silva E, Duarte AC. Sources of potentially toxic elements and organic pollutants in an urban area subjected to an industrial impact. *Environmental Monitoring and Assessment* 2012b; 184: 15-32.
- Chase DA, Karnjanapiboonwong A, Fang Y, Cobb GP, Morse AN, Anderson TA. Occurrence of synthetic musk fragrances in effluent and non-effluent impacted environments. *Science of The Total Environment* 2012; 416: 253-260.

- Che J-S, Yu R-P, Song Q-J, Wang L-P, Wu S-F. Determination of synthetic musks in the sediment of the Taihu lake by using accelerated solvent extraction (ASE) and GC/MS. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2011; 91: 387-399.
- ChemWiki. UC Davis ChemWiki. 2014, http://chemwiki.ucdavis.edu/Under_Construction/chem1/Essential_Background_for_General_Chemistry/Classification_and_Properties_of_Matter (acedido em 12 de maio de 2014).
- Chen F, Ying G-G, Ma Y-B, Chen Z-F, Lai H-J, Peng F-J. Field dissipation and risk assessment of typical personal care products TCC, TCS, AHTN and HHCB in biosolid-amended soils. *Science of The Total Environment* 2014; 470-471: 1078-1086.
- Choi S-D. Time trends in the levels and patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in pine bark, litter, and soil after a forest fire. *Science of The Total Environment* 2014; 470-471: 1441-1449.
- Connell DW. Human Health and Ecological Risk Assessment Due to Exposure to Chemicals. *Basic Concepts of Environmental Chemistry*, Second Edition. CRC Press, 2005a, pp. 413-440.
- Connell DW. Monitoring of Chemicals in the Environment. *Basic Concepts of Environmental Chemistry*, Second Edition. CRC Press, 2005b, pp. 389-411.
- Connell DW. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). *Basic Concepts of Environmental Chemistry*, Second Edition. CRC Press, 2005c, pp. 191-207.
- Connell DW. Soil Contamination. *Basic Concepts of Environmental Chemistry*, Second Edition. CRC Press, 2005d, pp. 323-344.
- Crompton TR. Extraction of organic compounds from soil. *Organic Compounds in Soils, Sediments & Sludges*. CRC Press, 2012, pp. 1-12.
- Dawson JJC, Maciel H, Paton GI, Semple KT. Analysis of Organic Pollutants in Environmental Samples. *Soil and Environmental Analysis*. CRC Press, 2003.
- Dong H, Tang H, Chen D, Xu T, Li L. Analysis of 7 synthetic musks in cream by supported liquid extraction and solid phase extraction followed by GC-MS/MS. *Talanta* 2014; 120: 248-54.
- Ene A, Bogdevich O, Sion A. Levels and distribution of organochlorine pesticides (OCPs) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in topsoils from SE Romania. *Science of The Total Environment* 2012a; 439: 76-86.
- Ene A, Bogdevich O, Sion A, Spanos T. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by gas chromatography-mass spectrometry in soils from Southeastern Romania. *Microchemical Journal* 2012b; 100: 36-41.
- Guo G-H, Wu F-C, He H-P, Zhang R-Q, Li H-X. Screening level ecological risk assessment for synthetic musks in surface water of Lake Taihu, China. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment* 2013a; 27: 111-119.
- Guo J, Jiang R, Pawliszyn J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in solid matrices using automated cold fiber headspace solid phase microextraction technique. *Journal of Chromatography A* 2013b; 1307: 66-72.
- Guo L, Lee HK. Microwave assisted extraction combined with solvent bar microextraction for one-step solvent-minimized extraction, cleanup and preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil samples. *Journal of Chromatography A* 2013; 1286: 9-15.
- Guzzella L, Poma G, De Paolis A, Roscioli C, Viviano G. Organic persistent toxic substances in soils, waters and sediments along an altitudinal gradient at Mt. Sagarmatha, Himalayas, Nepal. *Environmental Pollution* 2011; 159: 2552-2564.

- Haritash AK, Kaushik CP. Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials* 2009; 169: 1-15.
- HERA. Environmental Risk Assessment Polycyclic Musks AHTN and HHCB. In: Products HERAoiHC, editor, 2004.
- Hillel D. *Soil in the Environment: Crucible of Terrestrial Life*. San Diego: Academic Press, 2008.
- Homem V, Avelino Silva J, Cunha C, Alves A, Santos L. New analytical method for the determination of musks in personal care products by quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction followed by GC-MS. *Journal of Separation Science* 2013; 36: 2176-2184.
- Jiang Y-F, Wang X-T, Wang F, Jia Y, Wu M-H, Sheng G-Y, *et al.* Levels, composition profiles and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban soil of Shanghai, China. *Chemosphere* 2009; 75: 1112-1118.
- Käfferlein HU, Göen T, Angerer J. Musk Xylene: Analysis, Occurrence, Kinetics, and Toxicology. *Critical Reviews in Toxicology* 1998; 28: 431-476.
- Kevekordes S, Mersch-Sundermann V, Diez M, Dunkelberg H. In vitro genotoxicity of polycyclic musk fragrances in the micronucleus test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 1997; 395: 145-150.
- Korosi JB, Irvine G, Skierszkan EK, Doyle JR, Kimpe LE, Janvier J, *et al.* Localized enrichment of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil, spruce needles, and lake sediments linked to in-situ bitumen extraction near Cold Lake, Alberta. *Environmental Pollution* 2013; 182: 307-315.
- Kraft P. 'Brain Aided' Musk Design. *Chemistry & Biodiversity* 2004; 1: 1957-1974.
- Kwon H-O, Choi S-D. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils from a multi-industrial city, South Korea. *Science of The Total Environment* 2014; 470-471: 1494-1501.
- Lau EV, Gan S, Ng HK. Extraction techniques for polycyclic aromatic hydrocarbons in soils. *Int J Anal Chem* 2010; 2010: 398381.
- Li J, Shang X, Zhao Z, Tanguay RL, Dong Q, Huang C. Polycyclic aromatic hydrocarbons in water, sediment, soil, and plants of the Aojiang River waterway in Wenzhou, China. *Journal of Hazardous Materials* 2010; 173: 75-81.
- Litz NT, Müller J, Böhmer W. Occurrence of Polycyclic Musks in Sewage Sludge and their Behaviour in Soils and Plants. Part 2: Investigation of Polycyclic Musks in Soils and Plants. *Journal of Soils and Sediments* 2007; 7: 36-44.
- Liu N, Shi Y, Li W, Xu L, Cai Y. Concentrations and distribution of synthetic musks and siloxanes in sewage sludge of wastewater treatment plants in China. *Science of The Total Environment* 2014; 476-477: 65-72.
- Liu Y, Chen L, Zhao J, Wei Y, Pan Z, Meng X-Z, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in the surface soil of Shanghai, China: Concentrations, distribution and sources. *Organic Geochemistry* 2010; 41: 355-362.
- Llompart M, García-Jares C, Salgado C, Polo M, Cela R. Determination of musk compounds in sewage treatment plant sludge samples by solid-phase microextraction. *Journal of Chromatography A* 2003; 999: 185-193.
- Ma C, Ye S, Lin T, Ding X, Yuan H, Guo Z. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of wetlands in the Liao River Delta, Northeast China. *Marine Pollution Bulletin* 2014; 80: 160-167.
- Ma J, Zhou Y. Soil pollution by polycyclic aromatic hydrocarbons: A comparison of two Chinese cities. *Journal of Environmental Sciences* 2011; 23: 1518-1523.

- Maliszewska-Kordybach B, Smreczak B, Klimkowicz-Pawlas A. Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of The Total Environment* 2009; 407: 3746-3753.
- Man M, Wong MH. Removal of Persistent Organic Pollutants and Compounds of Emerging Concern in Public-Owned Sewage Treatment Works: A Review. *Environmental Contamination*. CRC Press, 2012, pp. 145-182.
- Mebarka DH, Taleb S, Benghalem A, Tundo P, Ahmed MT, Arabi M. Residue Analysis of Some PAHs in Some Algerian Soil: A Preliminary Environmental Impact Assessment. *Energy Procedia* 2012; 18: 1125-1134.
- Musa Bandowe BA, Shukurov N, Kersten M, Wilcke W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their oxygen-containing derivatives (OPAHs) in soils from the Angren industrial area, Uzbekistan. *Environmental Pollution* 2010; 158: 2888-2899.
- Nakata H, Uehara K, Goto Y, Fukumura M, Shimasaki H, Takikawa K, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in oysters and sediments from the Yatsushiro Sea, Japan: Comparison of potential risks among PAHs, dioxins and dioxin-like compounds in benthic organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2014; 99: 61-68.
- Orecchio S. Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil of a Natural Reserve (Isola delle Femmine) (Italy) located in front of a plant for the production of cement. *Journal of Hazardous Materials* 2010a; 173: 358-368.
- Orecchio S. Contamination from polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the soil of a botanic garden localized next to a former manufacturing gas plant in Palermo (Italy). *Journal of Hazardous Materials* 2010b; 180: 590-601.
- Pan D, Wang J, Chen C, Huang Ca, Cai Q, Yao S. Ultrasonic assisted extraction combined with titanium-plate based solid phase extraction for the analysis of PAHs in soil samples by HPLC-FLD. *Talanta* 2013; 108: 117-122.
- Patnaik P. Analysis of Organic Pollutants by Gas Chromatography. *Handbook of Environmental Analysis*. CRC Press, 2010a, pp. 21-30.
- Patnaik P. Analysis of Organic Pollutants by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Handbook of Environmental Analysis*. CRC Press, 2010b, pp. 31-47.
- Patnaik P. Extraction of Organic Pollutants and Sample Cleanup. *Handbook of Environmental Analysis*. CRC Press, 2010c, pp. 49-56.
- Patnaik P. Introduction. *Handbook of Environmental Analysis*. CRC Press, 2010d, pp. 3-5.
- Peck AM, Hornbuckle KC. Synthetic musk fragrances in urban and rural air of Iowa and the Great Lakes. *Atmospheric Environment* 2006; 40: 6101-6111.
- Peng C, Chen W, Liao X, Wang M, Ouyang Z, Jiao W, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in urban soils of Beijing: Status, sources, distribution and potential risk. *Environmental Pollution* 2011; 159: 802-808.
- Peng C, Ouyang Z, Wang M, Chen W, Jiao W. Vegetative cover and PAHs accumulation in soils of urban green space. *Environmental Pollution* 2012; 161: 36-42.
- Ramesh A, Archibong AE, Hood DB, Guo Z, Loganathan BG. Global Environmental Distribution and Human Health Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Global Contamination Trends of Persistent Organic Chemicals*. CRC Press, 2011, pp. 97-126.
- Ramos SF. Pine needles as biosamplers for emergent pollutants. Department of Chemical Engineering. Master dissertation. Faculty of Engineering, University of Porto, 2013.

- Ravindra K, Sokhi R, Van Grieken R. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmospheric Environment* 2008; 42: 2895-2921.
- Ribeiro C. O solo como objecto de uma estratégia de conservação. 20 anos, 20 temas: APEA, 2005.
- Riccardi C, Di Filippo P, Pomata D, Di Basilio M, Spicaglia S, Buiarelli F. Identification of hydrocarbon sources in contaminated soils of three industrial areas. *Science of The Total Environment* 2013; 450-451: 13-21.
- Roosens L, Covaci A, Neels H. Concentrations of synthetic musk compounds in personal care and sanitation products and human exposure profiles through dermal application. *Chemosphere* 2007; 69: 1540-1547.
- Schmeiser HH, Gminski R, Mersch-Sundermann V. Evaluation of health risks caused by musk ketone. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2001; 203: 293-299.
- Schnell S, Martin-Skilton R, Fernandes D, Porte C. The Interference of Nitro and Polycyclic Musks with Endogenous and Xenobiotic Metabolizing Enzymes in Carp: An in Vitro Study. *ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY* 2009; 43: 9458-9464.
- Schwab PA. Pollutants: Organic and Inorganic. *Encyclopedia of Soil Science*, Second Edition. CRC Press, 2005.
- Shang D, Kim M, Haberl M. Rapid and sensitive method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils using pseudo multiple reaction monitoring gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2014; 1334: 118-125.
- Smith KEC, Northcott GL, Jones KC. Influence of the extraction methodology on the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in pasture vegetation. *Journal of Chromatography A* 2006; 1116: 20-30.
- Stephens Jr DL, McFadden T, Heath OD, Mauldin RF. The effect of sonication on the recovery of polycyclic aromatic hydrocarbons from coal stack ash surfaces. *Chemosphere* 1994; 28: 1741-1747.
- Stevens JL, Northcott GL, Stern GA, Tomy GT, Jones KC. PAHs, PCBs, PCNs, Organochlorine Pesticides, Synthetic Musks, and Polychlorinated n-Alkanes in U.K. Sewage Sludge: Survey Results and Implications. *Environmental Science & Technology* 2003; 37: 462-467.
- Wang C, Wang X, Gong P, Yao T. Polycyclic aromatic hydrocarbons in surface soil across the Tibetan Plateau: Spatial distribution, source and air-soil exchange. *Environmental Pollution* 2014; 184: 138-144.
- Wang M, Peng C, Chen W, Markert B. Ecological risks of polycyclic musk in soils irrigated with reclaimed municipal wastewater. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2013; 97: 242-247.
- Wang W, Meng B, Lu X, Liu Y, Tao S. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: A comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques. *Analytica Chimica Acta* 2007; 602: 211-222.
- Wang Z, Ma X, Na G, Lin Z, Ding Q, Yao Z. Correlations between physicochemical properties of PAHs and their distribution in soil, moss and reindeer dung at Ny-Ålesund of the Arctic. *Environmental Pollution* 2009; 157: 3132-3136.

- Wei Y-L, Bao L-J, Wu C-C, He Z-C, Zeng EY. Association of soil polycyclic aromatic hydrocarbon levels and anthropogenic impacts in a rapidly urbanizing region: Spatial distribution, soil-air exchange and ecological risk. *Science of The Total Environment* 2014; 473-474: 676-684.
- Wilcke W, Bandowe BAM, Lueso MG, Ruppenthal M, del Valle H, Oelmann Y. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their polar derivatives (oxygenated PAHs, azaarenes) in soils along a climosequence in Argentina. *Science of The Total Environment* 2014; 473-474: 317-325.
- Wong MH. *Environmental Contamination: Health Risks and Ecological Restoration*. Environmental Contamination. CRC Press, 2012, pp. 1-18.
- Wrzosek K, Wisniewski Ł, Grambicka M, Antosová M, Polakovic M. *Chromatography. Engineering Aspects of Food Biotechnology*. CRC Press, 2013, pp. 183-202.
- Yang B, Xue N, Zhou L, Li F, Cong X, Han B, *et al.* Risk assessment and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in agricultural soils of Huanghuai plain, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2012; 84: 304-310.
- Yang J-J, Metcalfe CD. Fate of synthetic musks in a domestic wastewater treatment plant and in an agricultural field amended with biosolids. *Science of The Total Environment* 2006; 363: 149-165.
- Yuan G-L, Qin J-X, Li J, Lang X-X, Wang G-H. Persistent organic pollutants in soil near the Changwengluozha glacier of the Central Tibetan Plateau, China: Their sorption to clays and implication. *Science of The Total Environment* 2014a; 472: 309-315.
- Yuan G-L, Wu H-Z, Fu S, Han P, Lang X-X. Persistent organic pollutants (POPs) in the topsoil of typical urban renewal area in Beijing, China: Status, sources and potential risk. *Journal of Geochemical Exploration* 2014b; 138: 94-103.
- Zhang J, Yang J-c, Wang R-q, Hou H, Du X-m, Fan S-k, *et al.* Effects of pollution sources and soil properties on distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and risk assessment. *Science of The Total Environment* 2013; 463-464: 1-10.
- Zhang Y, Liu M, Chen H, Hou G. Source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in different ecological wetland components of the Qinkenpao Wetland in Northeast China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2014; 102: 160-167.

Anexo I - Curvas de Calibração

Para cada *musk* sintético em estudo foi elaborada uma curva de calibração (*Figuras A 1 - A 11*), através da injeção de nove padrões de calibração de diferentes concentrações (10, 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000 e 1500 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

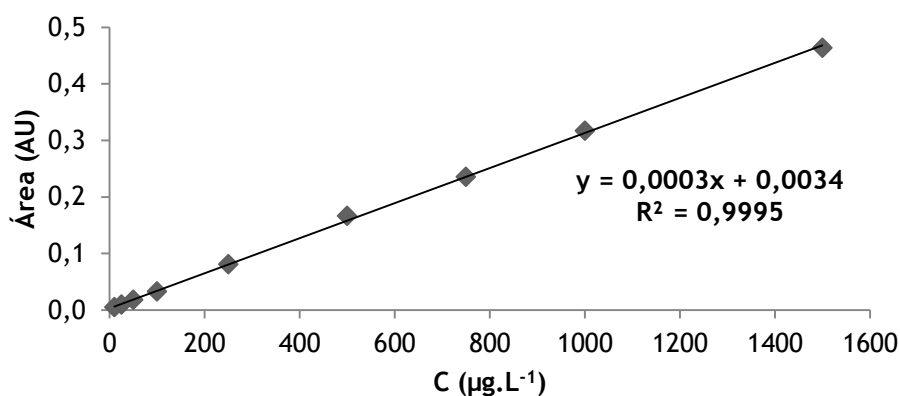


Figura A 1 - Curva de calibração para o cashmeran.

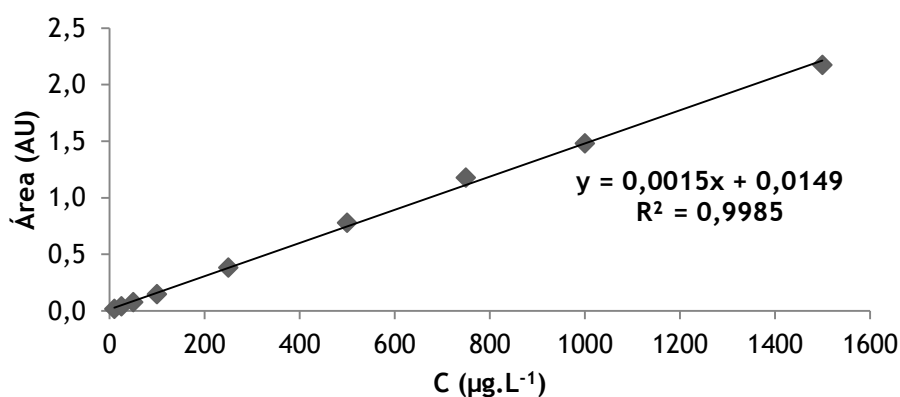


Figura A 2 - Curva de calibração para o celestolide.

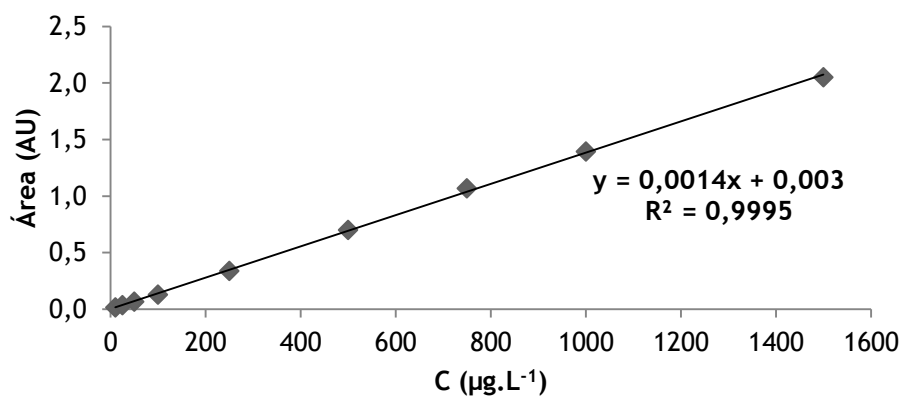


Figura A 3 - Curva de calibração para o galaxolide.

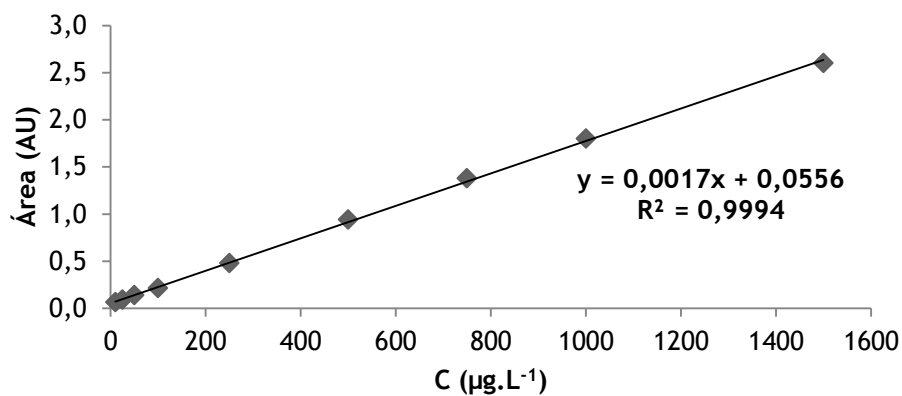


Figura A 4 - Curva de calibração para o phantolide.

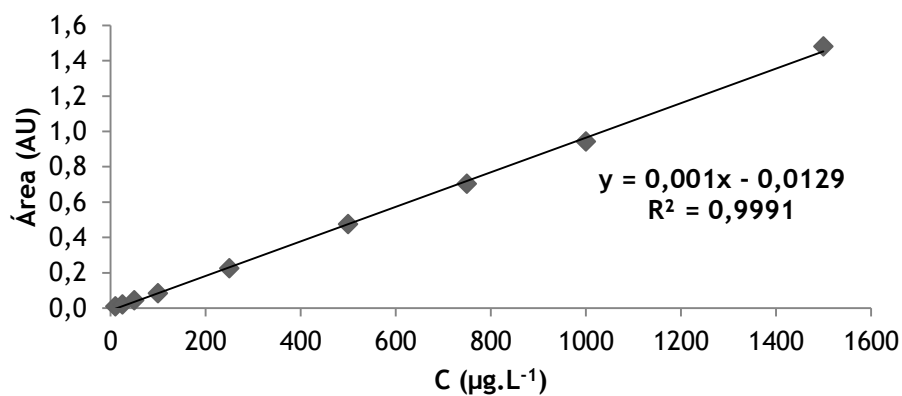


Figura A 5 - Curva de calibração para o tonalide.

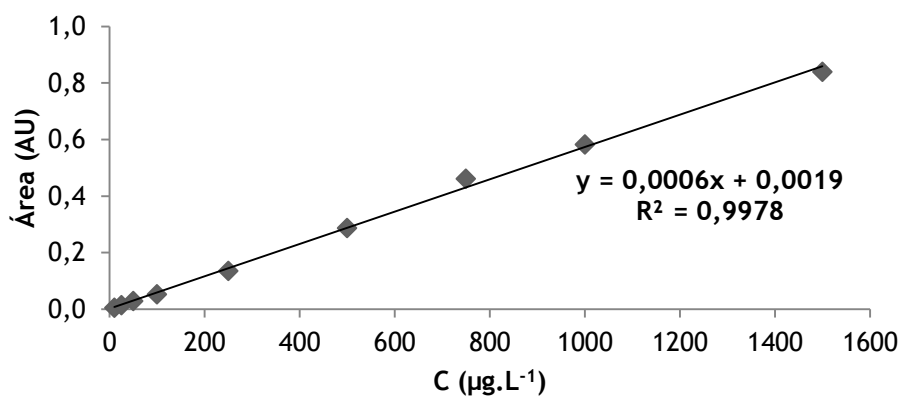


Figura A 6 - Curva de calibração para o traseolide.

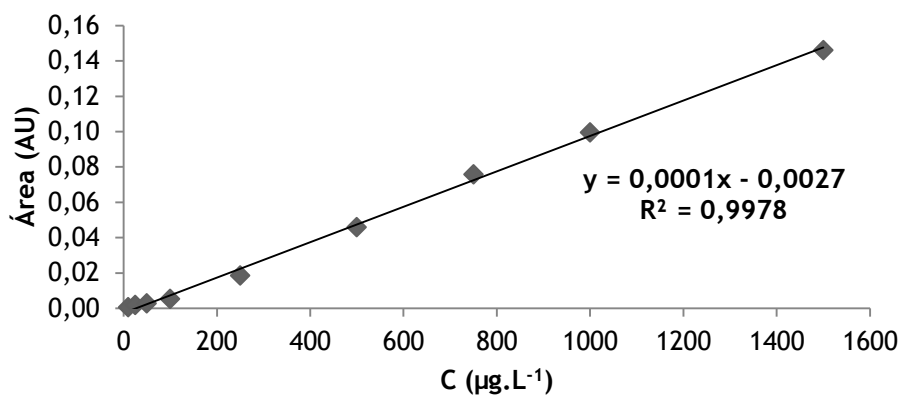


Figura A 7 - Curva de calibração para o musk ambrette.

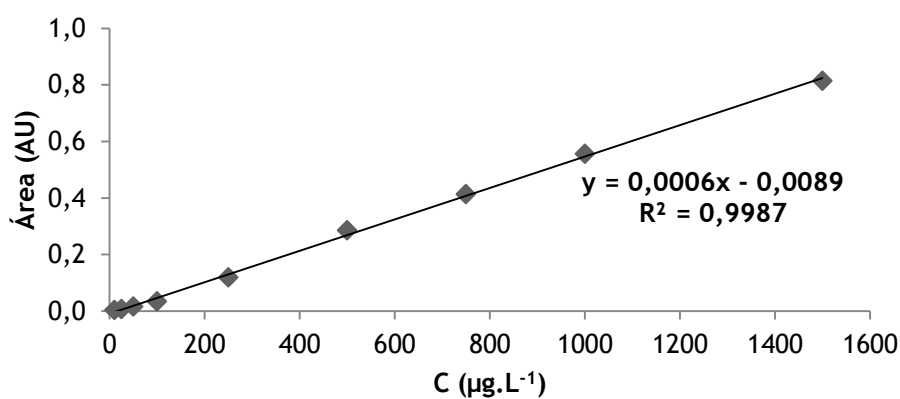


Figura A 8 - Curva de calibração para o musk ketone.

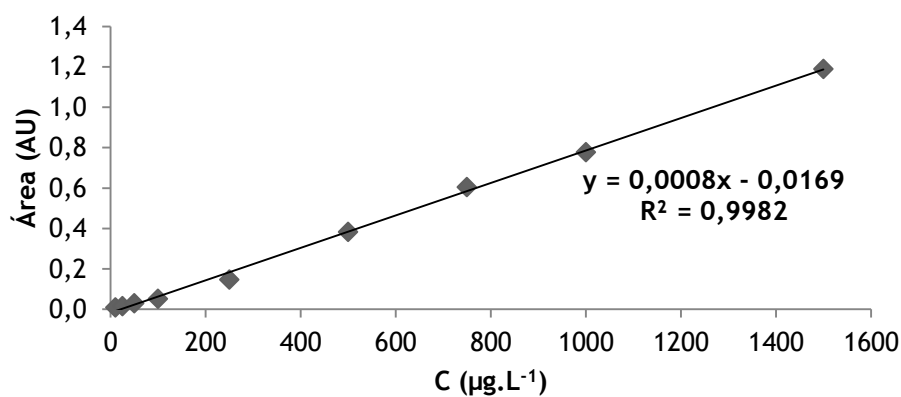


Figura A 9 - - Curva de calibração para o musk moskene.

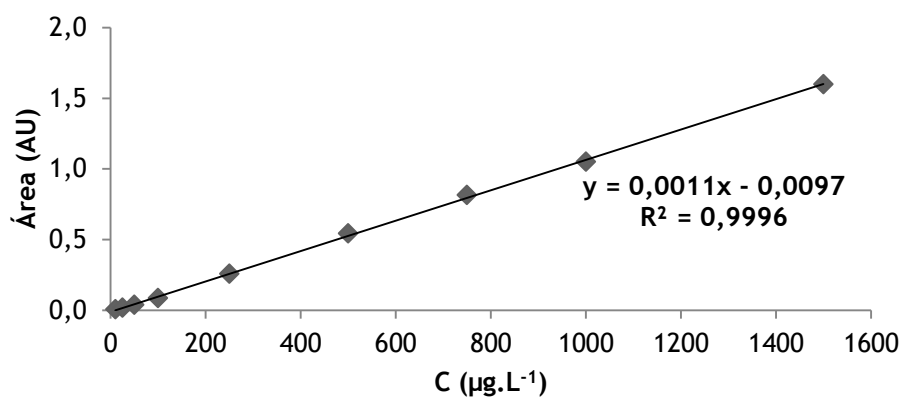


Figura A 10 - Curva de calibração para o musk tibetene.

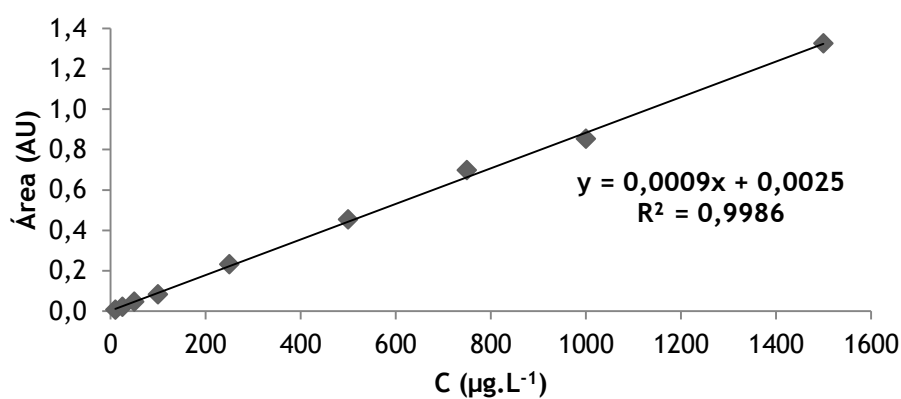


Figura A 11 - Curva de calibração para o musk xylene

Anexo II - Poster

ExTech 2014 - 16th International Symposium on Advances in Extraction Technologies, 25 - 28 May 2014, Chania (Greece)

